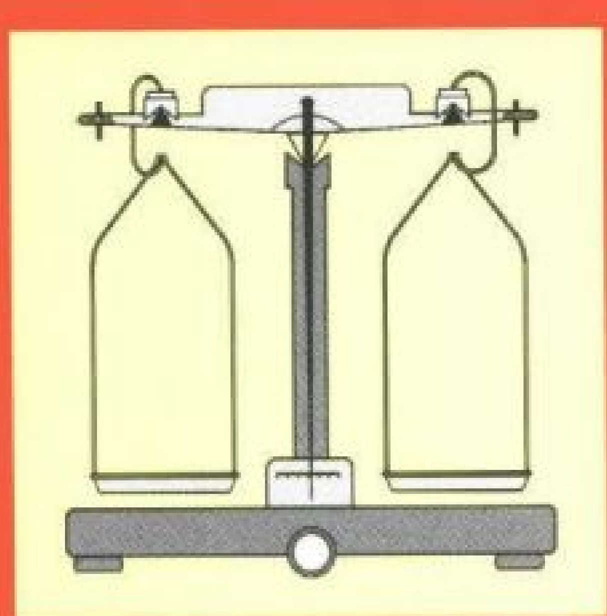
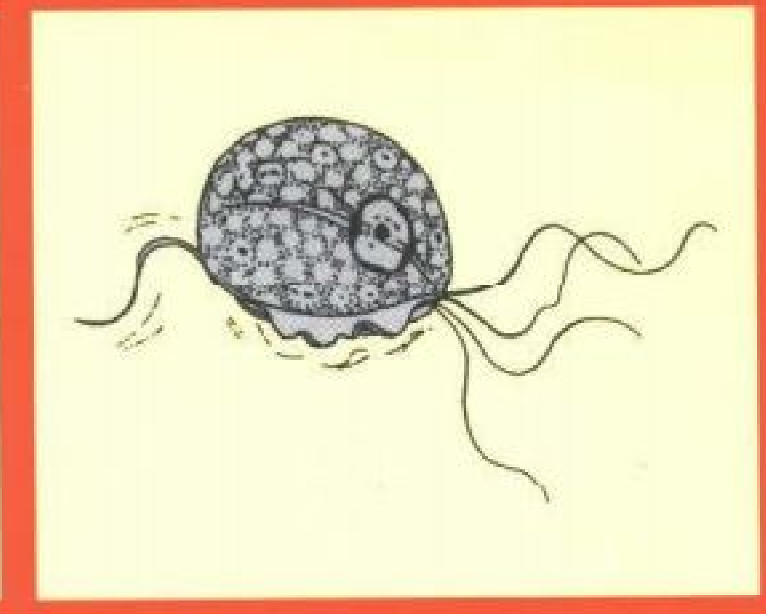
دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية







الطبعة الثانية





2007

صدرت الطبعة الإنكليزية عن
منظمة الصحة العالمية
جنيف

المركز التقني المعاصر
دار ابن النفيس
دمشق

دليل
الطرائق الأساسية
في المختبرات الطبية

الطبعة الثانية



منظمة الصحة العالمية
المكتب الإقليمي لشرق المتوسط
2007

صدرت الطبعة الإنكليزية عن
منظمة الصحة العالمية
جنيف

المركز التقني المعاصر
دار ابن النفيس
دمشق

من الممكن الحصول على منشورات منظمة الصحة العالمية من قسم التسويق والتوزيع في المكتب الإقليمي لشرق المتوسط، القاهرة، مصر، هاتف 2026702535+ البريد الالكتروني hbi@emro.who.int .
World Health Organization, 20 AVenue Appia, 1211 GeneVa 27, Switzerland
(tel.: +41 22 791 2476; fax: +41 22 791 4857; e-mail: bookorders@who.int)

الطبعة الأصل بالإنكليزية: صادرة عن المقر الرئيسي لمنظمة الصحة العالمية، جنيف، سويسرا،
«Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory»
الطبعة العربية: صادرة عن المكتب الإقليمي لشرق المتوسط، القاهرة، مصر
2007م/ 1428هـ.

بسم الله الرحمن الرحيم

تقديم

يُعَد دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية من الوثائق الأساسية التي لا يكاد يستغني عنها العاملون التقنيون في المختبرات ، يستوي في ذلك من يعمل منهم في المختبرات المحيطية والنائية التي تفتقر إلى التجهيزات التكنولوجية المعقَّدة ، والكواشف البيولوجية المتطورّة، ومن يعمل منهم في المختبرات المركزية المرجعية المعتمدة في المدن الكبيرة والمؤسسات الأكاديمية والجامعية . واضطلع بترجمة الطبعة الأولى من هذا الكتاب الأخ المفضال الدكتور محمد هيثم الخياط ، كبير مستشاري المدير الإقليمي ، ومدير البرنامج العربي لمنظمة الصحة العالمية ، وهو برنامج عالمي يتَّخذ من مقر المكتب الإقليمي لشرق المتوسط من القاهرة منطلقاً له . وقد لاقت تلك الطبعة قبولاً كبيراً في شتّى أرجاء الإقليم ، واستفاد منها العاملون في المختبرات طيلة ثلاثة عقود كاملة قبل أن تصدر الطبعة الثانية التي هي بين أيدينا اليوم، وقد حاول الزملاء المترجمون للطبعة الثانية السير على خطى ما تضمَّنته الطبعة السابقة من مصطلحات ومسميَّات ، وبذلوا غاية الجهد في ذلك ، والمأمول أن تجد هذه الطبعة ما وجدته سابقتها من قبول ، وأن يضعها المختبريون من فورهم موضع الاستعمال ، ولاسيَّما أن الكثير من الوسائل والطرائق المختبرية قد ضُمِّنت فيها لتلبّي احتياجات طيف واسع من المختبرات، في المدن والقرى والأرياف والمناطق النائية . وقد حرصنا في المنظمة على إصدارها باللغة العربية المبسَّطة ، مُزَيَّنة بالرسوم والأشكال التوضيحية المبسَّطة ، ومرصَّعة بالمصطلحات الطبية بلغتها الأصلية "الإنكليزية" لتعزيز الربط بين الواقع العملي وبين المصادر المرجعية للمواد وللطرائق العملية .

والله نسأل أن يوفّقنا لما فيه خَيْر أهلنا وبلداننا .

الدكتور حسين عبد الرزاق الجزائري
المدير الإقليمي لمنظمة الصحة العالمية
لشرق المتوسط

المحتوى

تمهيد

هذا الكتاب هو طبعة مُنَقَّحَة من «دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية» (منظمة الصحة العالمية، 1980)، وقد أُدْخِلت عليه تعديلات كثيرة من قبل الدكتور K Engbaek، والدكتور CC Heuck والسيد AH Moody. وقد كان هذا التنقيح ضرورياً نظراً للإجراءات والطرائق الجديدة التي تم تطويرها منذ الطبعة السابقة والتي ثبت أنها مفيدة في المختبرات الصغيرة في البلدان النامية؛ وقد أُدرجت الإجراءات ضمن الفقرات المتعلقة بها، كما حلت طرائق أكثر حداثة محل بعض الإجراءات القديمة المهجورة.

يبقى الغرض الأصلي لهذا الكتاب دون تغيير، فهو مُعَدٌّ بالدرجة الأولى ليستعمله العاملون في المختبر في البلدان النامية أثناء تدريبهم، ومن ثم أثناء عملهم. ولقد روعي في اختيار الطرائق قلة تكاليفها، وموثوقيتها، وبساطتها وكذلك توافر إمكانية تطبيقها في المختبرات الصغيرة.

إن منظمة الصحة العالمية توجه الشكر إلى كل من ساعد في تنقيح هذا الكتاب.

أ. مقـدمـة

1.1 هدف الكتاب

هذا الكتاب مُوَجّه للاستعمال بالدرجة الأولى في المختبرات الطبية في البلدان النامية؛ وقد صُمّم بحيث يستعمل على الخصوص في المختبرات المحيطية (النائية) في هذه البلدان (المختبرات الصغيرة أو المتوسطة الحجم الملحقة بمستشفيات المناطق) وفي المستوصفات والمراكز الصحية الريفية حيث يغلب أن يعمل التقني المختبري وحده. وقد روعي في لغة الكتاب أن تكون بسيطة ما أمكن، ولو أن التعابير التقنية الشائعة قد استعملت حين اللزوم.

يصف هذا الكتاب إجراءات الفحوص التي يمكن إجراؤها بواسطة المجهر أو ما يماثله من أجهزة بسيطة؛ وتتضمن هذه الإجراءات ما يلي:

- فحص البراز لتحري بيوض الديدان؛
- فحص الدم لتحري طفيليات الملاريا (البُرَدَاء)؛
- فحص البلغم أو القشع لتحري عصيات السل (التدرن)؛
- فحص البول لتحري الأصبغة الصفراوية؛
- فحص الدم لتعيين الكسر العددي لنمط الكريات البيض (التعداد التفريقي للكريات البيض أي الصيغة الكروية).

فالغاية إذاً هي التزويد بالطرائق المختبرية الأساسية التي تفيد في المختبرات المحيطية الصغيرة، والتي يمكن إجراؤها فيها بمعدات أساسية محدودة نسبياً.

على أن بعض المختبرات قد لا تستطيع إنجاز كل الإجراءات الموصوفة في الكتاب، فمثلاً قد لا يتمكن مختبر المركز الصحي الريفي من إجراء بعض الاختبارات الكيماوية للدم أو الاختبارات المصلية.

2.1 الكواشف والمعدات

1.2.1 الكواشف

أُعْطِيَ رقمٌ لكل كاشف، وأُشير أثناء وصف كل طريقة إلى الكواشف اللازمة وأرقامها؛ وتظهر في الملحق في آخر الكتاب قائمة أَلِفْبائيّة (بترتيب أحرف الهجاء) لجميع الكواشف المستعملة مع الأرقام التي أعطيت لها، وتركيبها، وطرق تحضيرها، ومُتَطَلّبات اختزانها، فمثلاً من الكواشف اللازمة لتلوين غرام كاشفُ البنفسجية المُتَبَلْوِرَة (الكاشف رقم 18)، وستجد عند هذا الرقم في القائمة الألفبائية للكواشف تركيبَ البنفسجية المتبلورة وطريقةَ تحضيرها (انظر الملحق).

2.2.1 المعدات

أُدْرِجَت المُعَدّات اللازمة لكل طريقة في بداية الفقرة المتعلق بها؛ ووُضعت قائمة تحتوي جميع الأجهزة اللازمة لتجهيز مختبر قادر على إجراء كل فحوص الكتاب في الفقرة 5.2.

أما إذا لم تكن بعض الأدوات متوافرة، فإن على التقني أن يبذل جهده لإيجاد البديل المناسب: فالقوارير الصغيرة الفارغة التي كانت تحتوي على المضادات الحيوية للحقن («قوارير البنيسيلين») وأوعية الأدوية الأخرى يمكن أن يحتفظ بها؛ وزفرف (مُرتَكَى) الشرائح أو الأنابيب يمكن صنعه محلياً؛ والصفائح (السكاك) الفارغة يمكن استعمالها لعمل حمامات مائية.

3.1 مسؤولية العاملين في المختبر

يقوم العاملون في المختبر بإجراء الفحوص المختبرية لتزويد الهيئة الطبية السريرية بمعلومات تفيد مصلحة المريض، فهم لذلك يقومون بعمل ذي شأن في مساعدة المرضى على التحسن، وهم في الوقت نفسه يحصلون أثناء عملهم على معلومات كثيرة عن المرضى وأمراضهم. فالعاملون في المختبر –كالهيئة السريرية– يجب أن يحتفظوا بهذه المعلومات على أنها سرية للغاية، فلا يجوز أن يتلقاها منهم إلا عضو الهيئة السريرية الذي طلب الفحوص؛ وحتى لو استفسر المريض عن نتيجته فينبغي أن يوجه إلى سؤال عضو الهيئة السريرية.

وفي معظم بلدان العالم توجد ضوابط أخلاقية وسلوكية ومهنية عالية تضبط سلوك الهيئة السريرية والعاملين المختبريين المؤهَّلين، وعلى كل مختبري أن يحافظ على هذه الضوابط والمعايير أثناء تداوله المعلومات السريرية المختلفة.

4.1 وحدات القياس

سوف يكون تعاملك في المختبر مع الكميات ووحدات القياس، ولذلك يهمك أن تفهم الفرق بينهما.

يطلق اسم الكمية على أية خاصة فيزيائية قابلة للقياس. ولنلاحظ أن لكلمة «الكمية» مَعْنَيَيْن: أحدهما هو المعنى العلمي الذي سبق ذكره، والثاني هو الاستعمال اليومي بمعنى «المقدار»؛ وفي الاستعمال العلمي نرى أن الارتفاع، والطول، والسرعة، ودرجة الحرارة، والتيار الكهربائي كلها كميات، في حين أن المعايير التي نقيس بها هذه الكميات تدعى «الوحدات».

1.4.1 الكميات والوحدات في المختبر السريري

يكاد يقتصر عملك في المختبر على إجراء قياسات للكميات، واستعمال الوحدات في تسجيل نتائج هذه القياسات؛ ولما كانت صحة المريض –وحتى حياته– قد تتوقف على مدى العناية التي يجري بها القياس والطريقة التي تسجل بها النتائج، فمن الضروري أن تتفهم بعمق كلاً من:

- الكميات التي تقيسها؛
- الأسماء التي تطلق على هذه الكميات؛
- الوحدات المستعملة في قياس هذه الكميات.

2.4.1 وحدات وأسماء الكميات في النظام الدولي SI

إن التوصل إلى مجموعة مُعَيَّرة بسيطة من وحدات القياس قد بقي هدف العلماء على مدى قرنين من الزمان؛ وقد اقترحت في هذه المدة عدة جمل مختلفة، ولكنها تركت لسبب أو لآخر، إذ أثبتت أنها غير مُرْضِيَة، اللهم إلا جملة واحدة هي الجملة المترية التي اقترحت سنة 1901. ومنذ ذلك الحين أخذت هذه الجملة تتوسع شيئاً فشيئاً إلى أن أُطلق عليها عام 1960 اسم النظام الدولي للوحدات واختصاراً «S I»؛ ويطلق على الوحدات التي تؤلف جزءاً من هذه الجملة أو هذا النظام اسم وحدات النظام الدولي أو «الوحدات الإسوية» أو «وحدات S I". وقد استعملت هذه الوحدات على نطاق واسع في العلوم، وخاصة الفيزياء والكيمياء، منذ 1901 (أي قبل أن تسمى وحدات S I بزمن طويل)، ولكن دخول معظمها إلى الطب قد تأخر إلى ما بعد 1960. وقد تحولت معظم الدول الآن إلى استعمال وحدات النظام الدولي في الطب.

وقد أعد علماء الطب قائمة منهجية بأسماء الكميات المختلفة تمهيداً لإدخال هذه الوحدات الدولية في التداول؛ وقد احتفظت بعض الكميات بأسمائها التقليدية، ولكن أسماء الكميات الأخرى قد بُدِّلَت، إذ كانت الأسماء التقليدية غير مضبوطة، أو مضللة، أو مدعاة للالتباس، واستعيض عنها بأسماء جديدة.

ويستعمل هذا الكتاب بشكل رئيسي وحدات النظام الدولي والأسماء المقبولة حالياً للكميات. على أنه في هذه المرحلة الانتقالية التي مازالت فيها بعض المختبرات تستعمل الوحدات والأسماء التقليدية، فقد أُدرجت هي أيضاً مع تبيان العلائق بينها وبين الوحدات والأسماء الحديثة.

وفيما يلي وصف موجز لوحدات النظام الدولي وأسماء الكميات المستعملة في هذا الكتاب.

وحدات النظام الدولي المستعملة في هذا الكتاب

كل وحدات النظام الدولي S I مبنية على سبع وحدات أساسية، وسنستعمل أربعاً منها في هذا الكتاب، وهي مدرجة في الجدول 1.1.

الجدول 1.1. وحدات النظام الدولي الأساسية المستعملة في هذا الكتاب

الكمية	اسم الوحدة	رمز الوحدة
الطول	متر	م
الكتلة	كيلوغرام	كغ
الزمن	الثانية	ثا
مقدار المادة	مول	مول

والوحدات الثلاثة الأولى مألوفة بالنسبة إلى القارئ، ولو أن أسماء كميات «الكتلة» و «مقدار المادة» واسم الوحدة «المول» تحتاج إلى إيضاح.

«الكتلة» هي التعبير الصحيح للدلالة على ما يعرف عادة باسم «الوزن». (يوجد معنى تقني لمصطلح «الوزن»: فهو قياس القوة التي تجذب بها الثقالة أو الجاذبية الأرضية كتلةً معينة؛ والكتلة –من ناحية أخرى– مستقلة عن الجاذبية الأرضية. ولكن التعبيرين مختلطان في الحديث اليومي، وحتى أننا نعبر عن قياس الكتلة بأننا «نَزِن»). أما «مقدار المادة» ووحدته «المول» فهما مصطلحان هامان جداً في الطب، واستعمالهما وتأثيرهما في المختبر أكثر من سائر الكميات، أو وحدات النظام الدولي. إذا تفاعلت مادتان كيميائيتان أو أكثر معاً فإنهما لاتتفاعلان بنسب كتلوية، فمثلاً انظر إلى التفاعل التالي:

بيكربونات الصوديوم + حمض الهيدروكلوريك ⟵ كلوريد الصوديوم + ثاني أوكسيد الكربون + ماء

في هذا التفاعل لا يتفاعل 1 كغ (كيلوغرام واحد) من بيكربونات الصوديوم مع 1 كغ من حمض الهيدروكلوريك؛ بل في الحقيقة يتفاعل 1 مول (مول واحد) من بيكربونات الصوديوم مع 1 مول من حمض الهيدروكلوريك. فكلما تفاعلت المواد الكيميائية، تفاعلت بنسب متعلقة بكتلتها الجُزَيئية (وهو الاسم الجديد لما يعرف باسم «الوزن الجزيئي»). فاستعمال المول –المبني على الكتلة الجزيئية النسبية– يقيس لنا مقادير متكافئة من مادتين أو أكثر (في حين أن استعمال وحدات الكتلة لا يفعل ذلك).

على أن معظم وحدات النظام الدولي تدعى الوحدات الإسويَّة المشتقَّة (وحدات S I المشتقة)، ويكون الحصول عليها بضرب الوحدات الأساسية أو تقسيمها بحسب ما يلائم. وتبدو بعض وحدات النظام الدولي المشتقة الشائعة في الجدول 2.1.

الجدول 2.1. وحدات النظام الدولي المشتقة المستعملة في هذا الكتيب

الكمية	اسم الوحدة	رمز الوحدة
المساحة	متر المربع	م^2
الحجم	متر مكعب	م^3
السرعة	متر في الثانية	م/ثا أو م ثا$^{-1}$

ومن الواضح أن وحدة المساحة هي متر×متر = متر مربع؛ وأن وحدة الحجم هي متر×متر×متر=متر مكعب؛ وأن وحدة السرعة هي المتر مقسوماً على الثانية= متر في الثانية؛ وكل الوحدات المشتقة الأخرى يتم الحصول عليها بهذه الطريقة البسيطة. على أنه قد يلزم أحياناً أن نضرب أو نقسم عدة مرات، ويصبح التعبير الناتج معقداً جداً فوحده الضغط مثلاً هي الكيلوغرام مقسوماً على (متر×ثانية×ثانية). وتجنباً لهذه الصعوبة أطلق على هذه الوحدات أسماء أعلام، فوحدة الضغط تدعى الباسكال.

على أن من الصعوبة بمكان الاقتصار على وحدات النظام الدولي الأساسية والوحدات المشتقة، فقد تكون كبيرة جداً أو صغيرة جداً بالنسبة إلى ما نقيسه، فالمتر مثلاً أكبر بكثير جداً من أن يلائم قياس قطر كرية الدم الحمراء؛ ولذلك أدخل في وحدات النظام الدولي ما ندعوه السوابق الدولية التي تضاف قبل اسم الوحدة لتدل على مضاعفة أو تقسيم تلك الوحدة على عامل معين؛ وقد دونت أسماء السوابق الدولية المستعملة في هذا الكتاب في الجدول 1-3.

الجدول 3.1. السوابق في النظام الدولي

عامل الضرب أو التقسيم	السابقة	رمز السابقة
ضرب بـ 000 000 1 أو مليون (×10^6)	ميغا	ميـ
ضرب بـ 000 1 (×10^3)	كيلو	كـ
تقسيم على 100 (×0.01 أو 10^{-2})	سنتي	سـ
تقسيم على 000 1 (×0.001 أو 10^{-3})	ميلي	مـ
تقسيم على 000 000 1 (×0.000 001 أو 10^{-6})	مكرو	مكـ
تقسيم على 000 1 مليون (×0.000 000 001 أو 10^{-9})	نانو	نـ

مثلاً 1 كيلومتر (1 كم)= 000 1 متر (000 1 م)؛ و 1 سنتيمتر (1 سم)=0.01 متر (0.01 م أو 10^{-2} م)؛ و 1 ميليمتر (1 مم)= 0.001 متر (0.001 م أو 10^{-3} م)؛ و 1 مكرومتر (1 مكم) =0.000001 متر (0.000001 م أو 10^{-6} م). ولهذه السوابق المعنى ذاته حينما تستعمل مع أي وحدة أخرى.

أسماء الكميات المستعملة في هذا الكتاب

إن مواكبة التحول إلى الوحدات الدولية قد اقتضت إدخال بعض الأسماء الجديدة للكميات؛ ومعظم الأسماء الجديدة يتعلق بالتركيز والكميات المتعلقة به.

الوحدات المستعملة لقياس التركيز

الصعوبة في موضوع التركيز أنه يمكن التعبير عنه بطرق عديدة، وكل أولئك كان يدعى «التركيز» في التسميات التقليدية مما كان مدعاة للتضليل. أما الآن فلكل من هذه الطرق اسمها الخاص. وقبل أن نصف هذه الأسماء الجديدة من الضروري، أن نوضح وحدة الحجم التي تدعى «اللتر» (ل)؛ ولعل القارئ قد تعود وحدة الحجم هذه، ولعله قد عجب لأنه لم يجدها مذكورة سابقاً؛ والواقع أنها لم تذكر لأن اللتر ليس في حقيقة الأمر وحدة من وحدات النظام الدولي.

فالوحدة المشتقة للحجم في النظام الدولي هي المتر المكعب، ولكن المتر المكعب أكبر بكثير من أن يصلح للقياسات المجراة في سوائل البدن ولذلك يمكن استعمال أحد أجزائه وهو الديسيمتر المكعب. و لم نذكر السابقه «ديسي» من قبل لأننا لن نستعملها في هذا الكتاب، ولكنها تعني العُشْر أي التقسيم على عشرة (أو الضرب بـ 0.1 أو 10^{-1}) فالديسيمتر إذن هو 0.1 م، والديسيمتر المكعب هو 0.1×0.1×0.1 م^3=0.001 م^3 (أو 10^{-3} م^3؛ أي واحد من ألف من المتر المكعب). وقد اتفق على إطلاق اسم «اللتر» على هذا الديسيمتر المكعب تسهيلاً، ولو أنه ليس جزءاً من وحدات النظام الدولي. فاللتر وأجزاؤه -كالميليلتر (مل)- تستعمل بصورة رئيسية لقياس الحجوم الصغيرة نسبياً من السوائل وأحياناً الغازات؛ أما حجوم الجوامد، والحجوم الكبيرة من السوائل والغازات فتقاس عادة بالمتر المكعب أو أحد أضعافه أو أجزائه. واللتر وحدة مهمة جداً لأنه الوحدة المستعملة في المختبرات السريرية لتسجيل كل التراكيز وما يتعلق بها من كميات. على أنك قد تصادف أحياناً (على الزجاجيات المدرّجة مثلاً) حجوماً مَرْقومة بأجزاء المتر المكعب. وقد دونت الأجزاء المتكافئة بالمتر المكعب وباللتر في الجدول 4.1.

الجدول 4.1. وحدات النظام الدولي المشتقة للحجم

اسم الوحدة	الرمز	المكافئ بالأمتار المكعبة (م3)	اسم الوحدة	الرمز	المكافئ بالألتار (ل)	المكافئ بالميليلترات (مل)
الديسيمتر المكعب	دم^3	0.001	لتر	ل	1	1000
–	100 سم^3	0.0001	دسيلترا	دل	0.1	100
–	10 سم^3	0.00001	سَنتيلترا	سل	0.01	10
السنتيمتر المكعب	سم^3	0.000001	ميليلتر	مل	0.001	1
الميليمتر المكعب	مم^3	0.000000001	مكرولتر	مكل	0.000001	0.001

يندر استعماله في المختبر.

وبعد أن شرحنا ما هو اللتر، نستطيع الآن أن نعود إلى أسماء الطرق المختلفة للتعبير عن التركيز. لنفرض أولاً أن لدينا محلولاً للملح ما: إن كتلة الملح المذاب مقسومة على حجم المحلول تدعى «التركيز الكُتْلَوي»، والتعريف الأعم للتركيز الكتلوي هو «كتلة مُكوّن ما (مثلاً: مادة مُذابة) مقسومة على حجم المحلول». والوحدة التي يقاس بها هذا التركيز هي الغرام (أو الميليغرام، المكروغرام، الخ ...) باللتر. ويندر أن يستعمل التركيز الكتلوي في النظام الدولي، اللهم إلا من أجل مواد كالبروتينات التي لم تعين بالضبط كتلتها الجزيئية النسبية (وزنها الجزيئي).

لنفرض الآن أن لدينا محلولاً آخر للملح، ولكننا عبرنا عن مقدار الملح المذاب هذه المرة بتعبير «مقدار المادة». فمقدار مادة الملح (أي عدد مولات الملح) الموجود في المحلول مقسوماً على حجم المحلول يدعى تركيز مقدار المادة أو للاختصار «تركيز المادة»؛ والتعريف الأعم لتركيز المادة هو «مقدار مادة مُكوّن ما (مثلاً: مادة مُذابة) مقسوماً على حجم المحلول». والوحدة التي يقاس بها تركيز المادة هو المول (أو الميليمول، المكرومول، الخ...) باللتر. وحين استعمال وحدات النظام الدولي يعبر عن كل التراكيز بوحدات تركيز المادة كلما أمكن ذلك.

وهذا الاستعمال لتركيز المادة بدلاً من التركيز الكتلوي هو الفارق الأهم بين وحدات النظام الدولي والوحدات التقليدية.

كان يستعمل التركيز الكتلوي في النظام التقليدي (ولو أنه لم يكن يدعى «التركيز الكتلوي»، فهذا اسم حديث نسبياً). على أن التركيز الكتلوي لم يكن يعبر عنه دائماً في النظام التقليدي «باللتر»: فقد كان يستعمل أحياناً «باللتر»، وأحياناً «بالـ 100 مل» (0.1 لتر)، وأحياناً أخرى «بالميليلتر». وقد كان كل بلد (وأحياناً كل مختبر في البلد الواحد) يتبع تسميات مختلفة مما كان يؤدي إلى تشويش كبير.

أما بالنسبة للمواد التي لا تنحل فليس من الممكن أن نستعمل التركيز الكتلوي ولا تركيز المادة، وإنما ينبغي استعمال كمية أخرى. فالدم مثلاً يحتوي على كثير من أنواع الخلايا، وهذه الخلايا أو الكريات معلقة في الدم غيرُ ذائبة، ولذلك ينبغي إيجاد طريقة للتعبير عن عدد الكريات في كل لتر من الدم: فالاسم الذي نطلقه هنا على هذه الكمية هو «التركيز العددي» الذي يُعَرَّف بأنه «عدد الجُسَيْمات المُعَيَّنة الموجودة في مزيج ما مقسوماً على حجم هذا المزيج»؛ والوحدة التي يقاس بها التركيز العددي هي العدد باللتر.

كان التركيز العددي يدعى في النظام التقليدي باسم «التعداد» وكانت الوحدة التي يعبر بها عنه هي «العدد بالميليمتر المكعب».

وقد لا تكون الكمية التي تهمنا أحياناً هي العدد الفعلي للكريات باللتر (التركيز العددي) وإنما نسبة الكريات من نمط معين: أي كَسْراً من العدد الإجمالي يمثل هذا النمط من الخلايا. وقد اتُّفق على أن يطلق على هذه الكمية اسم «الكسر العددي» ويُعَبَّر عنها ككسر من 1.0 (الواحد). وقد يبدو ذلك مدعاة للالتباس للوهلة الأولى، ولكنه في الحقيقة بسيط جداً: فالواحد أو العدد واحد يمثل الكلّ، والـ 0.5 يمثل النصف، والـ 0.2 يمثل الخُمس، والـ 0.25 يمثل الربع، والـ 0.1 يمثل العُشْر، وهكذا...

فمثلاً توجد خمسة أنواع من الكريات البيضاء في الدم، والكسر العددي لكل منها يمكن أن يكون 0.45، 0.35، 0.10، 0.08، و 0.02 (فإذا جمعت هذه الكسور تجد أن الإجمالي هو 1.0: أي الكلّ).

أما في النظام التقليدي فلم يكن لهذه الكمية اسم وكانت النتائج يعبر عنها بالنسبة المئويه بدل الكسور العشرية: فيكتب الكسر العددي 0.50 مثلاً هكذا 50% والكسر العددي 0.08 هكذا 8%، ويتضح من ذلك أن تقسيم هذه النسبة المئوية على مائة يعطي الكسر العددي.

وهنالك كمية أخرى يُعَبّر عنها ككسر من 1.0 وهي «الكسر الحَجْمي»، ويُعَرَّف بأنه حجم مكون معين من مكونات مزيج ما مقسوماً على الحجم الكلي للمزيج. فمثلاً إذا كان الحجم الكلي الذي تشغله كل الكريات الحمراء في لتر واحد (1000 مل) من الدم هو 450 مل، فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر هو 450/1000=0.45. والكسر الحجمي للكريات الحمراء ملاحظة هامة في تشخيص كثير من الأمراض وسوف تعمد إلى قياسه كثيراً في المختبر.

ولم يكن للكسر الحجمي اسم واحد في النظام التقليدي، بل كان يطلق على كل نوع من أنواع الكسور الحجمية المختلفة اسم مختلف: فالكسر الحجمي للكريات الحمراء مثلاً كان يدعى «حجم الكريات المُكَدَّسَة» (وهو اسم مضلل لأنه لا يعيِّن أي نوع من الكريات نقيس، ولأنه كان يسجل كنسبة مئوية لا كحجم).

ويمكن أن نرى مما تقدم أن الكسر العددي هو «عدد في عدد» والكسر الحجمي هو «حجم في حجم» أي أن كليهما نسبة.

وقد دُوِّنت في الجدول 5.1. أسماء ووحدات الكميات الجديدة والتقليدية مع عوامل التحويل فيما بينها.

الجدول 5.1. أسماء ووحدات الكميات الجديدة والتقليدية

اسم الكمية	الوحدة الدولية	اسم الكمية التقليدي	الوحدة التقليدية	عوامل التحويل مع أمثلة
التركيز العددي للكريات الحمر (الفقرة 5.9)	عدد×10^{12}/ل	تعداد الكريات الحمر	مليون/مم^3	لا يوجد عامل تحويل: 4.5 مليون/مم^3 =4.5×10^{12}/ل 5.0×10^{12}/ل=5.0 مليون/مم^3
الكسر الحجمي للكريات الحمر (الفقرة 4.9)	1	حجم الكريات المكدسة أو الرُّسابة أو الهيماتوكريت	%	حجم الكريات المكدسة38%×<u>0.01</u>= الكسر الحجمي للكريات الحمر 0.38 الكسر الحجمي للكريات الحمر 0.4×<u>100</u>=حجم الكريات المكدسة 40%
التركيز العددي للكريات البيض (الفقرة 6.9)	عدد×10^9/ل	تعداد الكريات البيض (في الدم)	عدد/مم^3	8000/مم^3×<u>0.001</u>=8.0×10^9/ل 7.5×10^9/ل×<u>1000</u>=7500/مم^3
التركيز العددي للكريات البيض(في السائل الدماغ-الشوكي) (الفقرة 3.3.8)	عدد×10^6/ل	تعداد الكريات البيض (في السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي))	عدد/مم^3	لا يوجد عامل تحويل: 27/مم^3=27×10^6/ل 25×10^6/ل=25/مم^3
الكسر العددي لنمط الكرية البيضاء (مثلاً: الكسر العددي للمفاويات) (الفقرتان 13.9 و 3.3.8)	1	الصيغة الكروية أو التعداد التفريقي للكريات البيض (مثلا اللمفاويات)	%	اللمفاويات 33%×<u>0.01</u>=الكسر العددي للمفاويات 0.33 الكسر العددي للمفاويات 0.33×<u>100</u>=اللمفاويات 33%
التركيز العددي للكريات الشبكية (الفقرة 12.9)	عدد×10^9/ل	تعداد الكريات الشبكية	عدد/مم^3	86000/مم^3×<u>0.001</u>=86.0×10^9/ل 91.5×10^9/ل×<u>1000</u>=91500/مم^3
الكسر العددي للكريات الشبكية (الفقرة 12.9)	عدد×10^{-3}	تعداد الكريات الشبكية	%	50%.0x10=5x10^{-3} 12×10^{-3}×<u>0.1</u>=1.2%
			‰	5 ‰=5×10^{-3} 12×10^{-3}=12 %

اسم الكمية	الوحدة الدولية	اسم الكمية التقليدي	الوحدة التقليدية	عوامل التحويل مع أمثلة[أ]
التركيز العددي للصفيحات (الفقرة 14.9)	عدد×10⁹/ل	تعداد الصفيحات	عدد/م³	220000/م³×0.001=220×10⁹/ل 250×10⁹/ل×1000=250000/م³
الغلوكوز، تركيز المادة (في الدم والسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) (الفقرة 1.10 و 8.3.4)	مول/ل	الغلوكوز، التركيز الكتلوي[ج] (في الدم والسائل النخاعي الدماغي–الشوكي)	مغ/100 مل	81 مغ/100 مل×0.0555=4.5 مول/ل 4.2 مول/ل×18.02=75.7 مغ/100مل
الهيموغلوبين أو الخضاب (Fe)، تركيز المادة (الفقرة 3.9)	مول/ل	الهيموغلوبين، التركيز الكتلوي[ج]	غ/100 مل	الهيموغلوبين13.7 غ/100 مل×0.621= الهيموغلوبين Hb (Fe) 8.5 مول/ل. الهيموغلوبين 9 (Fe) مول/ل×1.61= الهيموغلوبين 14.5 غ/100مل
الهيموغلوبين، التركيز الكتلوي (الفقرة 3.9)	غ/ل	الهيموغلوبين، التركيز الكتلوي[ج]	غ/100 مل	14.8 غ/100مل×10=148 غ/ل 139 غ/ل×0.1=13.9 غ/100مل
هيموغلوبين الكرية الوسطي (Fe)، تركيز المادة (الفقرة 4.9)	مول/ل	تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي (أي: تركيز كتلوي)[د]	%[د]	35 % ×0.621=21.7 مول/ل 22 مول/ل×1.611= 35.4%
التركيز الكتلوي لهيموغلوبين الكرية الوسطي (الفقرة 4.9)	غ/ل	تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي (أي: تركيز كتلوي)	%[د]	35%×10=350 غ/ل 298 غ/ل×0.1=29.8%
البروتين، التركيز الكتلوي (في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) (الفقرة 5.3.8)	غ/ل	البروتين، التركيز الكتلوي[ج]	مغ/100 مل غ/ل	25 مغ/100 مل×0.01=0.25 غ/ل 0.31 غ/ل×100=31 مغ/100 مل لا يتغير
اليوريا، تركيز المادة (في الدم) (الفقرة 2.10)	مول/ل	اليوريا، التركيز الكتلوي[ج]	مغ/100 مل	15 مغ/100 مل×0.167=2.5 مول/ل 2.9 مول/ل×6.01=17.4 مغ/100 مل
		نتروجين اليوريا[هـ]، التركيز الكتلوي	مغ/100 مل	نتروجين اليوريا 7 مغ/100 مل ×0.357=اليوريا 2.5 مول/ل

أ. تبين الأمثلة أولاً تحويل القيم العددية الحالية بالوحدات التقليدية إلى الوحدات الدولية، ثم تحويل الوحدات الدولية إلى الوحدات التقليدية؛ وقد وضع خط تحت عامل التحويل.

ب. في هذه الحالة لا يسجل الكسر العددي على أنه جزء من واحد 1 بل جزء من ألف 1000 لتجنب القيم العددية الصغيرة.

جـ. كان التركيز الكتلوي هو الذي يقاس ولكن تعبير «التركيز الكتلوي» لم يكن مستعملاً عادة.

د. كان يعبر أحياناً عن تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي بشكل كسر عشري بدل النسبة المئوية، مثلاً 0.35 بدل 35%. ففي مثل هذه الحالة يجب أن تضرب كل عوامل التحويل بمائة 100 أو تقسم عليها، كما في الأمثلة التالية:

0.35×62.1=21.7 مول/ل

22 مول/ل×0.01611=0.354

0.35×1000=350 غ/ل

298 غ/ل×0.001=0.298

هـ. كانت اليوريا تقاس في النظام التقليدي تارة باليوريا وتارة بنتروجين اليوريا (أي محتوى اليوريا من النتروجين).



القسم الأول

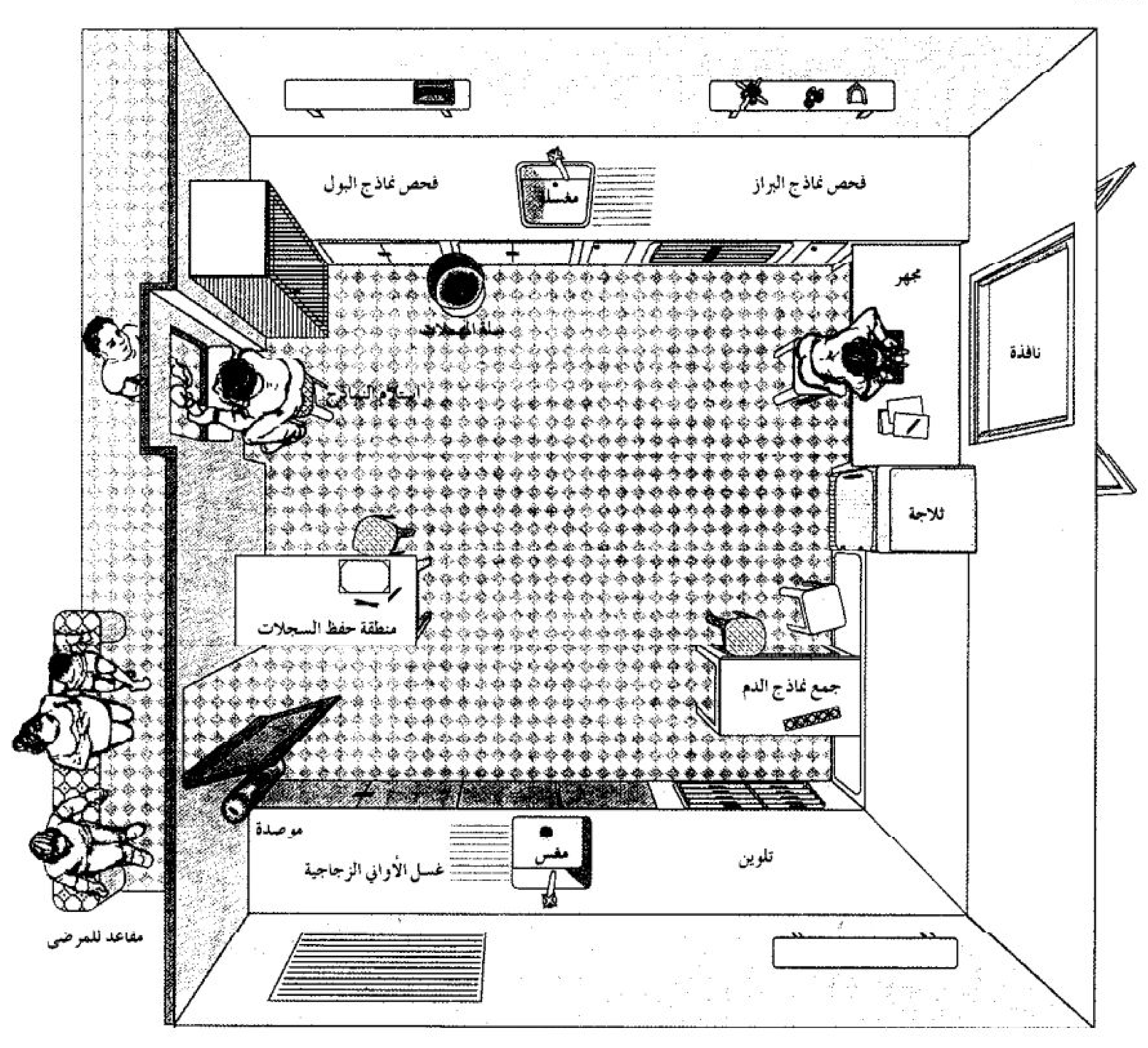
2. إعداد مختبر صحي محيطي

1.2 مخطط مختبر صحي محيطي (صغير)

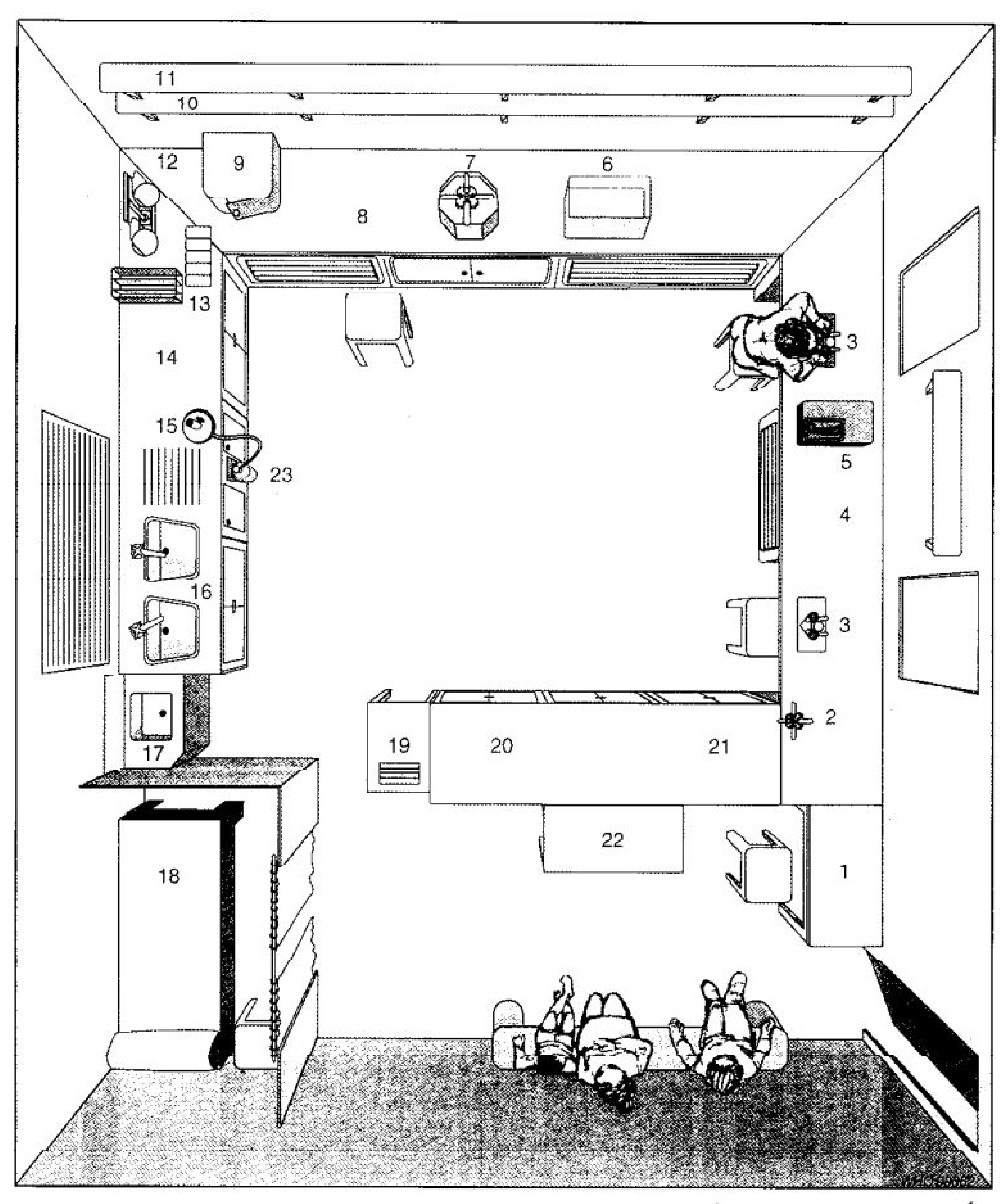
1.1.2 المختبر المكوَّن من غرفة واحدة

يبين الشكل 1.2 التنظيم الممكن للمختبر الطبي الصغير (المحيطي) المرتبط بمركز صحي، فهو يبدي مختبراً قادراً على إجراء بعض أو كل الطرائق الموصوفة في هذا الكتاب، وهذا المخطط محدود بغرفة واحدة، إذ أن ذلك غالباً هو كل المساحة المتوافرة لمثل هذا المختبر. على أنه ينبغي أن تكون أبعاد الغرفة 5 م×6 م على الأقل.

يشير الشكل 2.2 إلى تنظيم ممكن آخر للمختبر المحيطي، ومن الواضح أنه يمكن تعديله ليلائم الظروف المختلفة.



الشكل 1.2. مخطط مختبر وحيد الغرفة



الشكل 2.2. المخطط البديل للمختبر وحيد الغرفة

1: منضدة للمرضى الخارجين؛ 2: منضدة يدوية؛ 3: مجاهر؛ 4: منطقة الدمويات؛ 5: مقياس الألوان؛ 6: الحمام المائي؛ 7: المنبذة الكهربائية؛ 8: منطقة الفحوص المصلية للسفلس والفحوص الكيماوية الحيوية؛ 9: ثلاجة الكواشف؛ 10: رف الكواشف؛ 11: رف للأدوات الزجاجية؛ 12: ميزان؛ 13: علبة التلوين؛ 14: منطقة فحص نماذج البلغم أو القشع؛ 15: الملهب؛ 16: حوض؛ 17: حوض الفضلات؛ 18: سرير للمرضى؛ 19: منطقة حفظ السجلات؛ 20: منطقة فحص نماذج البراز؛ 21: منطقة فحص نماذج البول؛22: منطقة استلام النمذج؛ 23: أسطوانة غاز.

2.1.2 المختبر المكوَّن من غرفتين

إذا توافرت غرفتان فإن الغرفة الثانية تمكن استعمالها للغسل والتعقيم، إذ ينبغي أن تُخْرَج المواد القذرة أو الملوثة من منطقة العمل في المختبر بأسرع ما يمكن وذلك من أجل سلامة العاملين ولتجنب حدوث أخطاء أو تلوث مُتَبَادَل.

2.2 الكهرباء

يجب توافر مورد مُعوّل عليه للطاقة لضمان استمرار العمل في المختبر، ويمكن التزود بالطاقة من المصادر التالية:

- الخط الكهربائي الرئيسي.
- مولدات الكهرباء.
- نظام الإمداد بالطاقة الشمسية.

غالباً ما تعاني المختبرات البعيدة من مشاكل في ضمان الإمداد المستمر بالقدرة الكهربائية ويمكن أن تحتاج إلى توليد الكهرباء باستعمال مُوَلِّد محلي أو نظام إمداد بالطاقة الشمسية.

1.2.2 مصادر الكهرباء

المُوَلِّدات

يمكن التزود بالطاقة الكهربائية بمولد يستعمل الوقود، ومن الممكن استعمال محرك الاحتراق لسيارة ذات محرك أو مولد مُعَدّ لهذا الغرض، وينتج هذا المولد تياراً متناوباً 110 ڤولط أو 220 ڤولط ويمكنه أن يولد عادة طاقة أكثر مما يولده محرك السيارة. يؤمن محرك السيارة تياراً مستمراً 12 أو 24 ڤولط يمكنه أن يغذي بطاريات قابلة لإعادة الشحن (انظر: أدناه).

يحدد نمطُ التيار المتوافر انتقاءَ معدات المختبر، فمثلاً إن الأداة التي تتطلب تياراً مستمراً يمكن تزويدها بالطاقة من:

- بطاريات.
- شبكة للتيار المستمر مع مُحَوِّل transformer.
- شبكة للتيار المتناوب مع مُغَيِّر أو قالب converter.

إن تركيب شبكة للتيار المستمر بسيط وهي مأمونة التشغيل؛ بيد أنه يجب –بالنسبة للأدوات التي تتطلب تياراً مستمراً منخفض الفولطاج (6 ڤولط أو 12 ڤولط أو24 ڤولط)– تغيير الفولطاج المرتفع الناتج من شبكة التيار المستمر وذلك بواسطة مُحَوِّل transformer. أما بالنسبة للأدوات التي تتطلب تياراً متناوباً (110 ڤولط أو 220 ڤولط أو 240 ڤولط) فيجب تغيير التيار المستمر إلى تيار متناوب وذلك بواسطة قالب inverter. وتكون القالبات ثقيلة وغالية الثمن ويحصل فَقْدٌ كبير للطاقة خلال عملية القَلْب أو التغيير conversion، ولذلك يفضل استعمالُ إما أجهزة تعمل بالتيار المستمر أو بالتيار المتناوب اعتماداً على التيار المتوافر للمختبر وتجنبُ الحاجة لعملية القلب.

إذا لم يكن المولد متوافراً أو إذا كان الخط الكهربائي الرئيسي متاحاً ولكن التيار الكهربائي يتموّج أو يتعرض لأعطال متكررة فقد يكون الإمداد بالطاقة الشمسية مفضلاً (انظر :أدناه).

أنظمة الإمداد بالطاقة الشمسية (الأنظمة الضوئية الفولطائية photovoltaic)

يمكن تشغيل مختبر قليل الأدوات ذي متطلبات منخفضة من الطاقة وذلك بمورد صغير للطاقة، وبالنسبة للمختبرات المتوضعة في المناطق البعيدة قد تكون أنظمة الإمداد بالطاقة الشمسية أكثر ملاءمة لها من المولد إذ تنعدم في هذه الحالة مشاكل الإمداد بالوقود ويمكنها أن تكون أسهل صيانة.

تتكون أنظمة الإمداد بالطاقة الشمسية من ثلاثة مكونات:

- اللوحة panel (أو اللوحات) الشمسية.
- منظم regulator للشحنة الكهربائية.
- البطاريات.

اللوحات الشمسية

يتوافر تجارياً نمطان مختلفان للوحة الشمسية:

- لوحات بخلايا ذات سيليكون بلوري.
- لوحات بخلايا ذات سيليكون لابلوري أو عديم الشكل.

وتكون لوحات السيليكون اللابلوري أو عديم الشكل أرخص ثمناً ولكنها تنتج طاقة شمسية بمردود أقل من لوحات السيليكون البلوري.

يجب تركيب اللوحات الشمسية بحيث تكون معرضة للضوء المباشر، إذ أن الظل ينقص من مردود إنتاج الطاقة؛ ويجب أن تكون مائلة بزاوية 15°؛ كما ينبغي أن يكون الجانب السفلي للوحة حرَّ التهوية. ويجب أن يكون البعدُ الأدنى للجانب السفلي للوحه عن سطح البنيه الحامله أكثرَ من 5 سم لتجنب تسخين اللوحة الأمر الذي ينقص من مردود إنتاج الطاقة.

منظمات الشحنة الكهربائية

يضبط مُنَظِّمُ الشحنة شَحْنَ وتفريغ البطاريات تلقائياً: فعندما ينخفض فولطاج البطارية إلى دون قيمة العتبة أثناء التفريغ فإن أداة المختبر تنفصل عن البطارية، ومن ناحية أخرى إذا زاد الفولطاج فوق قيمة العتبة (مثلاً عندما يعاد شحن البطارية) فإن اللوحة الشمسية تنفصل عن البطارية. ويلائم منظمُ الشحنة الجيد الفولطاج الأقصى للبطارية مع تغير حرارة البيئة المحيطة، وهذا يقي من فقد الماء في البطارية بالتبخر. ومن المهم الاحتفاظ بمنظم للشحنة احتياطي مُخَزَّن تحسباً لحالة حدوث عطل. ويجب أن يكون منظم الشحنة المختار مستقراً في الظروف المدارية؛ وينصح باختيار منظم شحنة ذي لوحة عرض رقمي متكامل integrated digital display يسمح بمراقبة شحنة البطارية بسهولة.

البطاريات

بطاريات الرصاص

تتطلب جمل الطاقة الشمسية بطاريات قابلة لإعادة الشحن وهذه يمكن أن تكون إما بطاريات الرصاص أو بطاريات النيكل-الكادميوم (Ni-Cd)، وتفضل بطاريات الرصاص علماً أنه يتوافر تجارياً العديد من الأنماط (انظر: الجدول 1.2). تتصف البطاريات المرتفعة المردود أو الكفاءة بمزايا عملية رغم أنها أكثر غلاء من البطاريات العادية.

عند شراء البطاريات اختر البطاريات 12 ڤولط ذات السعة الأعلى [1000 أمبير - ساعة (Ah)].

وتتوافر تجارياً عدة أنماط من بطاريات الرصاص التي لا تتطلب الصيانة، ولكنها أكثر غلاء وأقل مردوداً من تلك التي تتطلب الصيانة؛ وما زال تطوير هذا النمط من البطاريات جارياً، علماً أنه لم يختبر بشكل كامل في الأقاليم المدارية. ولذلك فإنه لا يوصى بالبطاريات التي لا تتطلب الصيانة.

نقل بطاريات الرصاص:

يجب تفريغ بطاريات الرصاص قبل نقلها، ومن المهم التذكر أنه إذا كانت بطاريات الرصاص ستنقل في الهواء فيجب أن تكون فارغة من محلول الكهارل الذي يجب الاستعاضة عنه لدى الوصول إلى الوجهة المقصودة.

الجدول 1.2 مواصفات البطاريات المستعملة للإمداد بالطاقة الشمسية.

المواصفة	نمط البطارية			
	النيكل-الكادميوم	الرصاص-الكالسيوم الأنتيمون (2%)	الرصاص-الكالسيوم الأنتيمون (6%)	الرصاص-الكالسيوم
نمط الكهارل	سائل	سائل	سائل	سائل
تفريغ الشحنة الأقصى	%100	%80	%80	%50
تفريغ الشحنة خلال التشغيل الطبيعي	%20	%20	%20	%20
الفولطاج/خلية	1.2 ڤولط	2 ڤولط	2 ڤولط	2 ڤولط
معدل تفريغ الشحنة الذاتي	مرتفع	منخفض	متوسط	منخفض
ضرورة الشحن إلى الذروة	دنيا	نادرة	متواترة	نادرة
التكلفة المالية	مرتفعة	متوسطة	متوسطة	منخفضة
الملاءمة للاستعمال الضوئي الفولطائي	يوصى بها كثيراً	يوصى بها كثيراً	يوصى بها	لا يوصى بها

صيانة بطاريات الرصاص:

يجب أن لا يتجاوز تفريغ الشحنة اليومي لبطاريات الرصاص نسبةَ 20% من سعة البطارية وإلا فإن عمر البطارية (حوالي 1100 دورة إعادة شحن في الحالة السوية) سيقصر؛ فإذا أُفرِغَت البطاريات من شحنتها بشكل متكرر بنسبة 40% من سعتها فإنها تدوم حوالي 600 دورة فقط. (تتوافر بعض بطاريات الرصاص الخاصة التي يمكن تفريغ شحنتها بنسبة 40% ولكنها تدوم حوالي 3000 دورة إعادة شحن). ويجب من أجل المحافظة على مستوى السائل التحقق منه بانتظام، ويجب عند الضرورة إعادة ملء البطارية بالماء المقطر المستعمل لبطاريات السيارة.

لا يمكن استبدال بطاريات السيارة العادية بالبطاريات المرتفعة المردود في حالة حدوث عطل، وعندما لا تتوافر سوى بطاريات السيارة للاستبدال ببطارية مرتفعة المردود مختلة (معيبة) فإنه يجب أن تستبدل بطاريات السياره بكل البطاريات الموجودة في جملة اختزان الطاقة.

بطاريات النيكل–الكادميوم (Ni–Cd)

يمكن إعادة شحن بطاريات النيكل–الكادميوم بلوحة شمسية؛ وتكون لبعض بطاريات النيكل–الكادميوم نفس القياس ولكنها ذات سعات مختلفة؛ وتتوافر بطارية النيكل–الكادميوم من القياس AA بسعة من 0.5 Ah إلى 0.7 أمبير ساعة؛ ويجب اختيار البطاريات ذات السعة الأعلى. إن بطاريات النيكل–الكادميوم الصغيرة من النمط AAA إلى D والمستعملة لأدوات المختبر يجب أن يعاد شحنها مقدماً لكي نتمكن من التشغيل المستمر للأدوات في المختبر. ويمكن أن يصل عمر بطاريات النيكل–الكادميوم إلى 1000 دورة إعادة شحن وذلك تبعاً لجودتها.

صيانة بطاريات النيكل–الكادميوم:

يبدو أن بطاريات النيكل–الكادميوم لا تعمل بمُعَوَّلِيَّة أو بموثوقية في البلدان المدارية، وينجم عدم المعولية الظاهر هذا عن زيادة معدل تفريغ الشحنة وليس عن إعادة الشحن–إعادة شحن البطارية– القليلة المردود في الحرارة المحيطية المرتفعة (انظر: أدناه). ويمكن التغلب على هذه المشاكل جزئياً كما يلي:

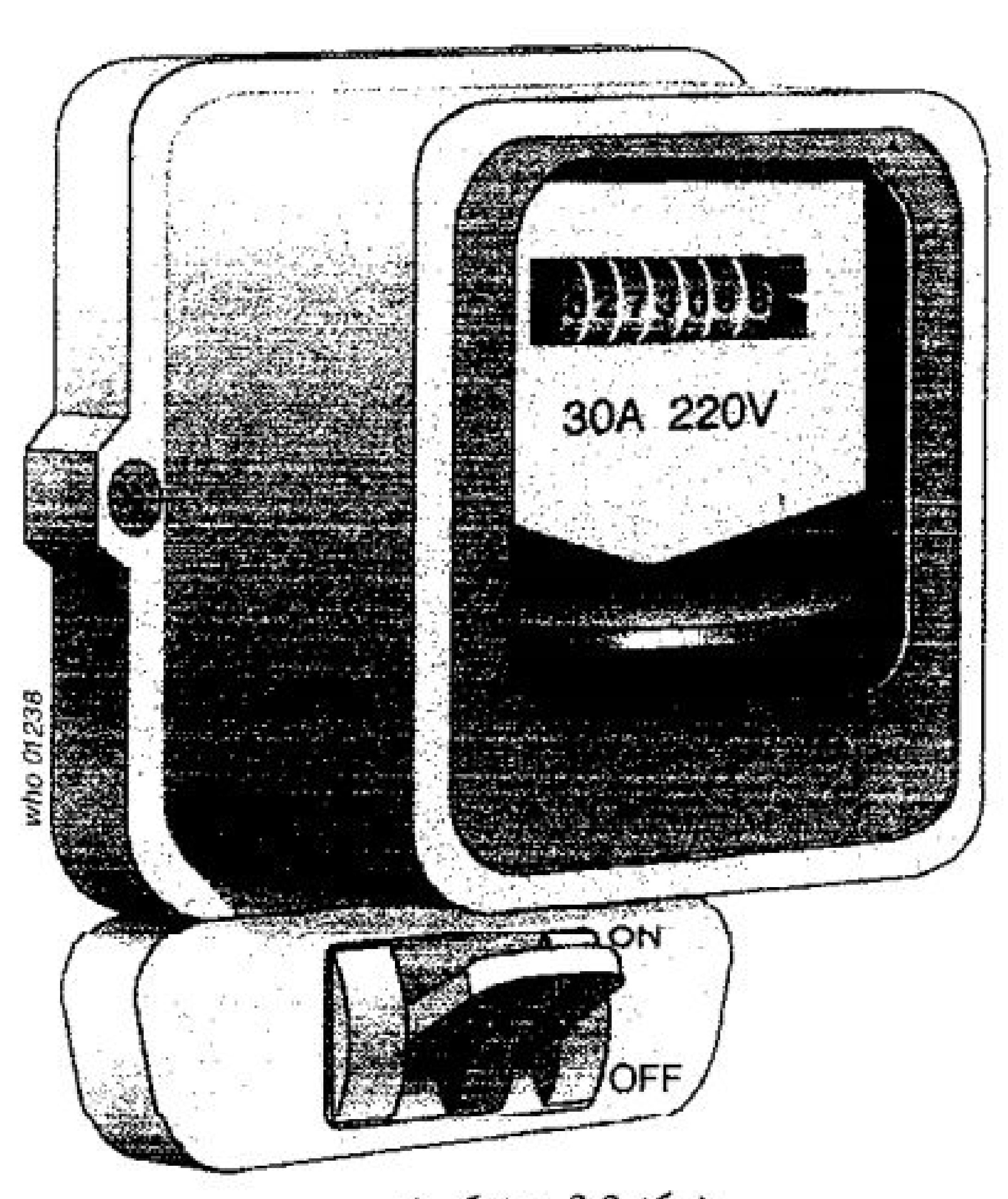
- يجب إعادة شحن بطاريات النيكل–الكادميوم بحرارة محيطية منخفضة (مثلاً: في ثلاجة أو في صندوق لإعادة الشحن معدّ بشكل خاص لهذا الغرض) وذلك قبيل استعمالها مباشرة. (فمثلاً لا يتوافر سوى 62% من الطاقة من بطارية النيكل–الكادميوم التي كانت قد شحنت بحرارة 40 س).
- يجب تخزين بطاريات النيكل–الكادميوم المعاد شحنها، وذلك في شروط باردة جافة للتقليل من معدل تفريغ الشحنة الذاتي: (فمثلاً بطارية النيكل–الكادميوم المخزنة لمدة أسبوعين بحرارة 40س ستكون سعتها المتبقية 32% فقط)؛ كما أن الرطوبة المرتفعة تُسَرِّع أيضاً تفريغ الشحنة الذاتي للبطارية.

2.2.2 إعداد وتشغيل المعدات equipment الكهربائية البسيطة

إذا كان المختبر مزوداً بتيار كهربائي، فيمكن استعمال المعدات التالية:

- مصباح كهربائي للمجهر (الإضاءة مستقرة مما يجعل الإحكام أيْسَر).
- مِنْبَذة كهربائية (أسرع بكثير من النمط المُشَغَّل باليد).
- مِنْبَذة المكروهيماتوكريت (المِكْداس الصُغْري) (للكشف السريع عن فقر الدم).
- مقياس طيفي ضوئي أو مقياس لوني (يسمح بتقدير مضبوط للهيموغلوبين).
- حمام مائي، ثلاجة، الخ...

قد يحتاج الأمر إلى إجراء بعض التوصيلات أو التصليحات لهذه المعدات في المختبر. ويُقْصَد من الإيضاحات المعطاة فيما يلي أن تساعد التقني المختبري على إجراء ذلك، وهي محصورة بالخطوات التي يجب اتباعها في كل حالة. وينبغي أن يقوم الأشخاص غير الخبيرين بإجراء هذه الإجراءات بإشراف مدرّب في أوّل الأمر.



الشكل 3.2. عداد كهرباء.

عَدَّاد الكهرباء electricity meter (الشكل 3.2)

يقيس عدادُ الكهرباء مقدارَ الكهرباء المستعمل ويسجله، وهو يُبين:

- الفولطاج (الفولطية) مقيساً بالفولط (220 فولط، 110 فولط الخ...)؛
- شدة التيار مقيسةً بالأمبير (A)؛
- تَرَدُّد التيار المتناوب، مثلاً 50 هرتز Hz (دورة بالثانية).

وهنالك نماذج من عدّادات الكهرباء لها أزرار أو مَفَاتح:

- زرٌّ أحمر مكتوب عليه إيقاف «OFF»، وعندما يُكْبَسُ الزر يُقْطَع التيار الكهربائي عن البناء كله (الفاصمة الرئيسية)؛
- زرٌّ أخضر، وعندما يُكبَس فإن التيار الكهربائي يُعاَدَ وصله؛
- مِفْتَح قَلاب، مكتوب عليه تشغيل "ON" وعندما يُقلب المِفْتَح إلى جهة معينة يُقطع التيار الكهربائي، بينما يعاد وصل التيار إذا قُلِب المفتح إلى الجهة الأُخرى.

إن زر الـ OFF أو المِفْتَح القلاب يمكن أيضاً أن يقوم بعمل فاصلة الدارة (فاصم للتيار) circuit–breaker، وذلك بأن يقطع التيار تلقائياً عندما يزداد العبء على الدّارة، فإذا حدث ذلك فيجب أولاً إيجاد وتصحيح الخلل الذي سبب الانقطاع ثم يُضْغَطُ على الزرّ الأخضر أو يعاد المفتح القلاب إلى وضع تشغيل التيار.

التجهيز بمعدات كهربائية جديدة

الفولطاج

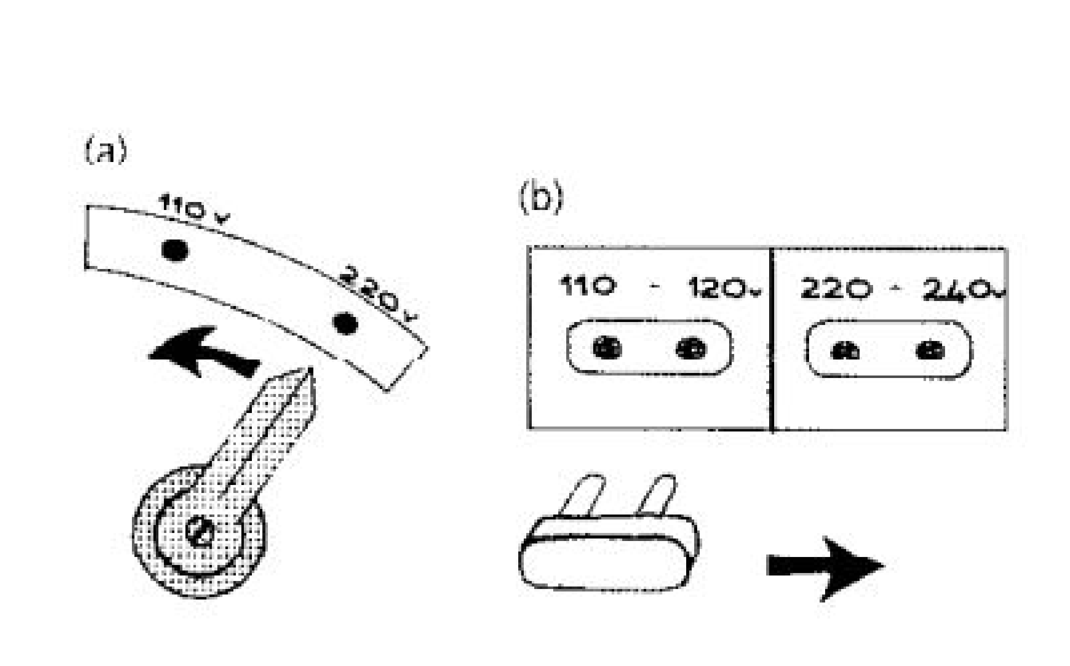
ينبغي التحقق من أن الفولطاج المكتوب على الأداة هو نفسُ فولطاج الخط الكهربائي الرئيسي في المختبر؛ وتوجد لُصاقَة على الأداة تبيّن الفولطاج الذي يجب استعماله، أما فولطاج المختبر فهو مكتوبٌ على عدّاد الكهرباء.

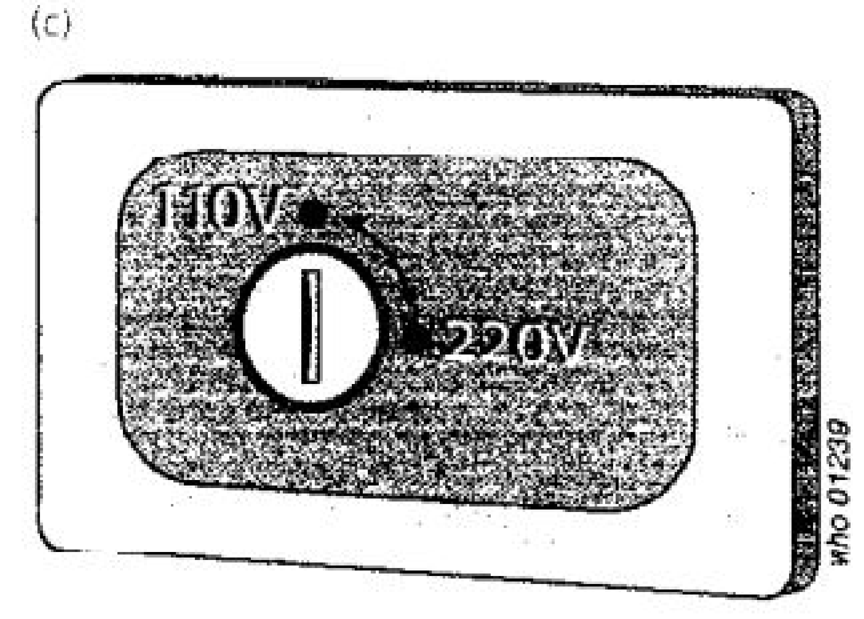
المعدات الثنائية الفولطاج

يمكن أن تُستعمَل الأدوات الثنائية الفولطاج مع نوعين مختلفين من الفولطاج.

ويكون هنالك جُهيْزَة deVice على الأداة تُمكّن من اختيار الفولطاج المناسب أي نفس الفولطاج المكتوب على عدّاد الكهرباء، وتبعاً لنوع الأداة يمكن لهذه الجهيزة أن تكون:

- رافعةً أو مِفْتَحاً يمكن تحريكه إلى وضع 110 أو وضع 220 فولط (الشكل a 4.2)؛
- قابِساً دون سلك يمكن نقلة من وضع 110 أو وضع 220 فولط (الشكل b 4.2)؛
- لولباً يمكن إدارته إلى وضع 110 أو وضع 220 فولط (الشكل c 4.2).





الشكل 4.2. الأدوات ثنائية الفولطاج.

القدرة الكهربائية للأداة

تقاس القدرة الكهربائية بالواط (W) وتُكتب على اللوحة التي تبين الفولطاج الصحيح للأداة. وكلُّ قطعة من المعدات الكهربائية في المختبر تستعمل مقداراً معيناً من القدرة، ويجب ألا تتجاوز القدرةُ الإجمالية المستعملة في أي وقت قدرةَ التيار الكهربائي الذي يُزَوَّد به المختبر. ويمكن معرفة مقدار القدرة المتوافر من الأرقام المسجلة على عدّاد الكهرباء: يضرب الفولطاج (ڤولط) بشدة التيار (A). فمثلاً إذا كان الفولطاج 220 ڤولط وشدة التيار 30 آمبير فالقدرة الكهربائية المزوّدة 220 × 30 = 6600 واط أو 6,6 كيلو واط.

استعمال مُحَوِّل

إذا كانت الأداة المراد استعمالها مُعدةً للعمل على تيار يختلف فولطاجه عن فولطاج التيار الكهربائي للمختبر فمكن استعمالها مع مُحَوِّل. فمثلاً إذا كانت المِنْبَذة المزوَّدة تعمل فقط على110 ڤولط وفولطاج تيار المختبر هو 220 ڤولط فيُطلب محول 110 ڤولط – 220 ڤولط مع بيان قياس القدرة الكهربية مقدرة بالواط في المنبذة، توصل المِنْبَذة إلى مأخذ 110 ڤولط للمحول ثم يوصل مأخذ الـ 220 فولط من المحول في التيار الرئيسي للمختبر (من المقبس الجداري).

إطفاء المعدات الكهربائية

بعد أن تطفأ الأداة فيجب نزعها من المأخذ الجداري، لأنها إذا تُركَت فيه فقد يؤدي ذلك إلى حريق.

3.2.2 ماذا تفعل في حالة توقف المعدات الكهربائية؟

إذا كانت الأداة لا تعمل، فيجب التحقق مما يلي:

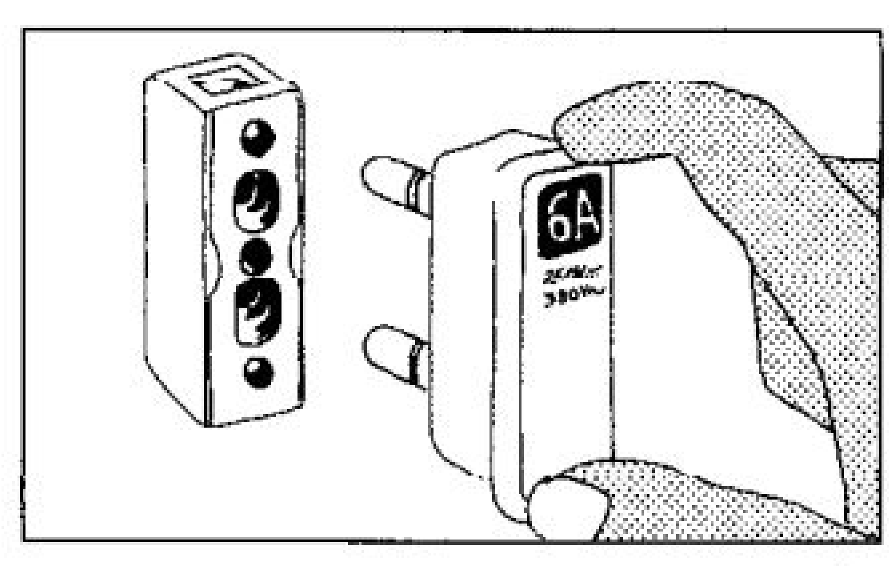
- الفَوَاصِم (الفيوز).
- المأخذ (الفيش) في نهاية الكبل.
- الكَبْل.
- المَقْبس الجداري.
- فولطاج الأداة وفولطاج التيار الكهربائي.

قبل إجراء أي شيء، يُقطَع التيار الكهربائي:

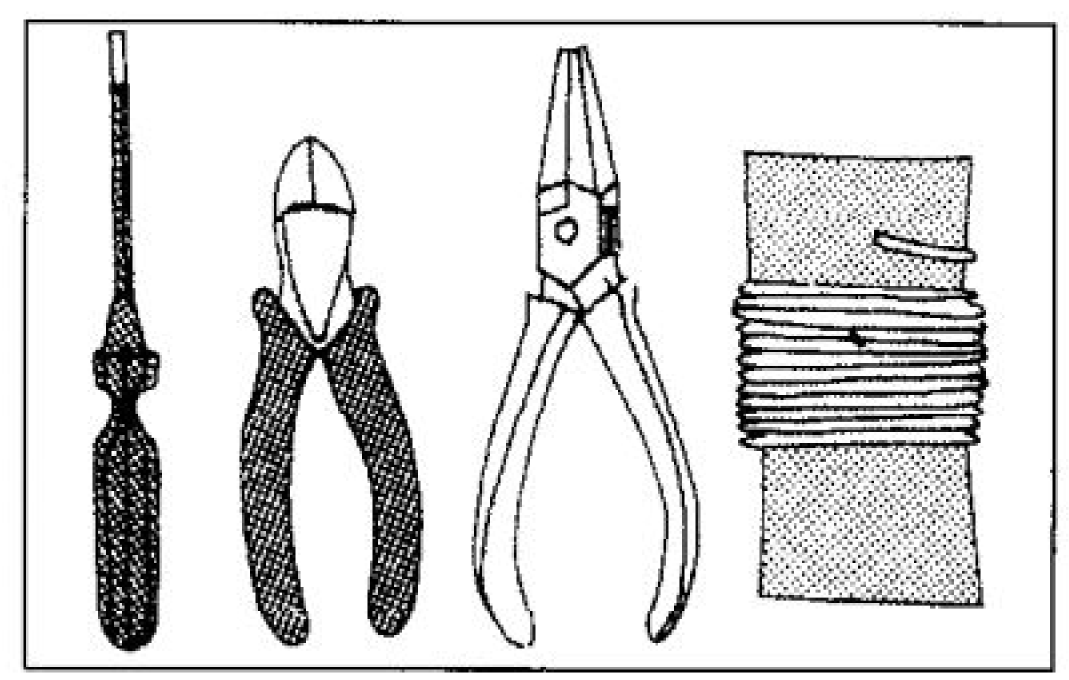
- إما بالضغط على الزرّ أو المِفْتَح المكتوب عليه إغلاق «OFF" على عداد الكهرباء.
- أو بسحب الفاصمة الرئيسية (الشكل 5.2).

الأدوات (الشكل 6.2)

- مفكّ.
- قَطَّاعة للأسلاك.
- زَرَّادة أو كمّاشة مُسطحة الرأس أو مؤنَّفة.
- سِلْك للفاصمة.
- قِطَع غِيَار مختلفة: مآخذ، مَفَاتيح، الخ..



الشكل 5.2. نزع الفاصمة الرئيسية.


الشكل 6.2. أدوات مستعملة في الأعمال الكهربائية.

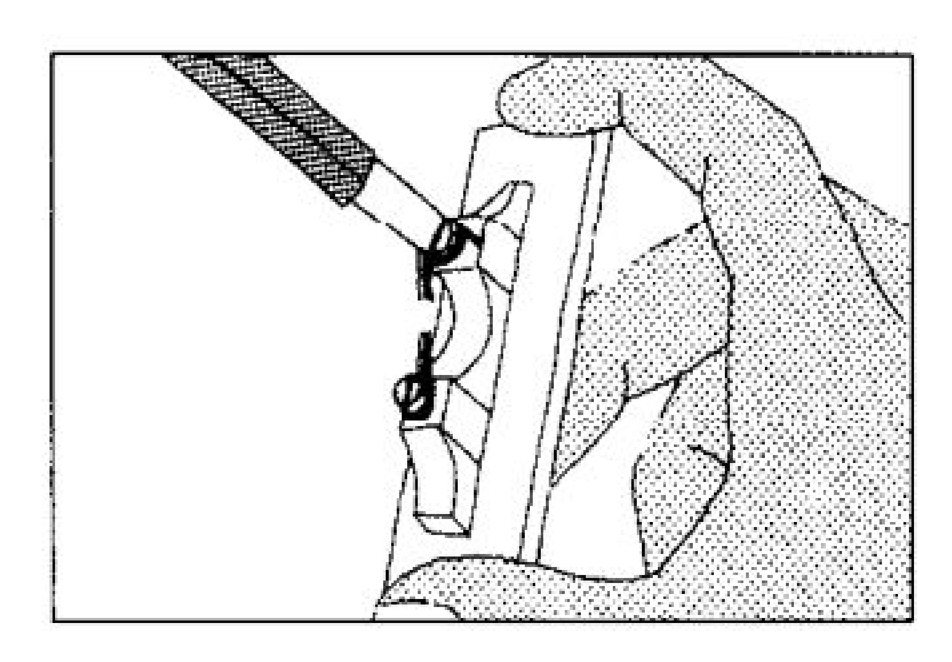
تبديل الفاصِمَة

يُنزَعُ الغطاء من علبة الفاصمة.

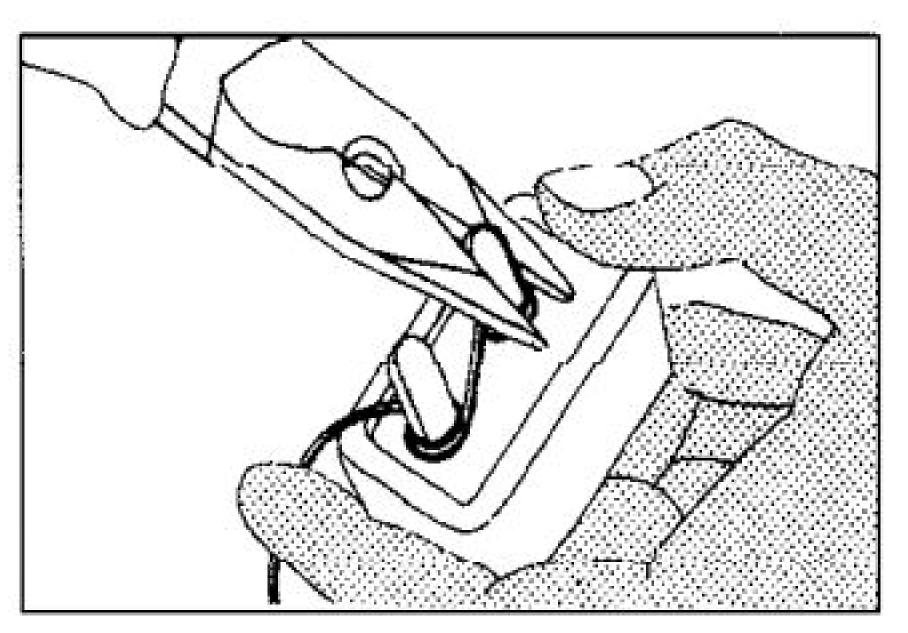
إذا كانت الفاصمة من ذوات اللوالب فإن سلك الفاصمة يكون ممدوداً بين لولبين، فإذا كان هذا السلك مقطوعاً أو مصهوراً فإن التيار لا يستطيع أن يمرّ: وبالتالي نقول إن الفاصمة قد احترقت. يحلُّ اللولبان (الشكل 7.2)، وينزع السلك القديم، ثم يستبدل به سلكُ فاصمةٍ جديدٌ من نفس المَقَاس (الثخن)، أو سلك أنحف إذا كان نفس المقاس غير متوافر. تُثنَى السلك الجديد بشكل «S» بحيث تكون هنالك عروة في كل طرف، ويجب أن يمر السلك تحت الثنيات الفلكات الصغيرة التي تحت اللوالب.

وأما إذا كانت الفاصمة ذات مأخذين، فيثبت سلك الفاصمة في قاعدة هذين المأخذين، ثم يثبت المأخذان بالزرّادة (الشكل 8.2).

ومتى تم تصليح الفاصمة، تُفحَص الدارة بكاملها قبل إعادة وصل التيار الكهربائي.



الشكل 7.2. نزع سلك الفاصمة من الفاصمة المحترقة.



الشكل 8.2. تبديل فاصمة ثنائية الدبابيس

التحقق من القابس

إذا اشتُبِه بوجود خَلَلٍ في القابس فمن الضروري إصلاحه أو تغييره. وثمة عدة أنماط من القوابس، ولبعضها لولبٌ في ظاهره يمكن فكه بحيث يمكن نزع الغطاء.

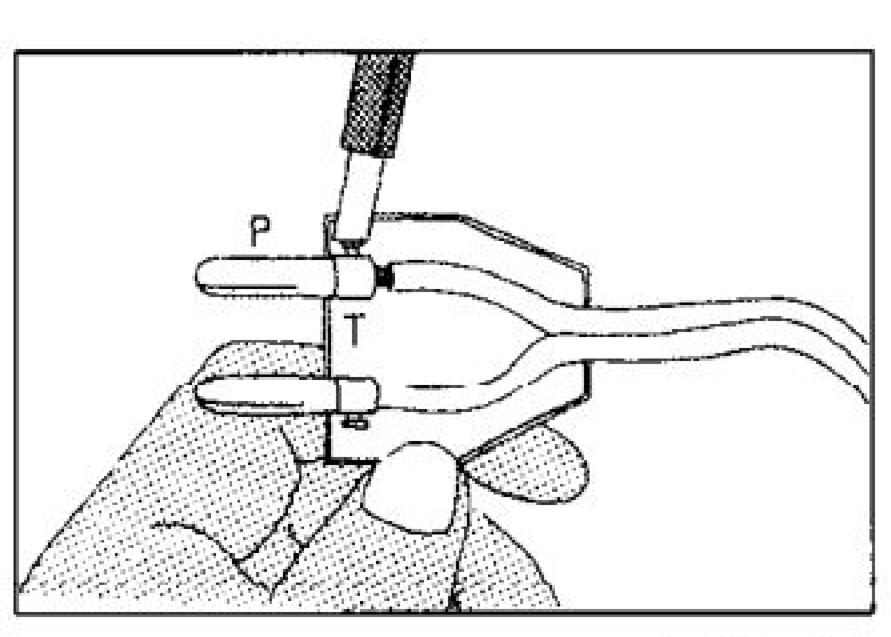
المأخذ ثنائي الدبابيس

يرى سلكا الكبل في داخل القابس وقد ثبت كل منهما إلى لولبِ مِطْرَافِ (T) دبوس التماس (P) (الشكل 9.2). يُتَحقَّق من أن لولب المطراف في كل جهة وثيق الربط، فقد يكون هذا أحياناً كل ما يلزم لإصلاح القابس.

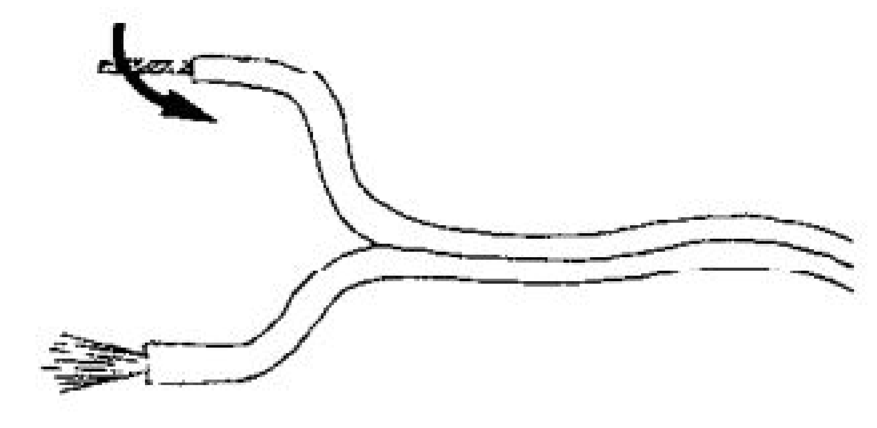
تركيب مأخذ جديد

إذا أُريد تركيب مأخذ جديد يُعَرَّى السلك من غمده أي المادة العازلة المحيطة به بطول 1.0–1.5 سم من نهاية كلٍ من السلكين اللذين يؤلفان الكبل، ويُجرى ذلك بكشط المادة العازلة بسكين مع الانتباه لئلا تخرب السكين باطنَ السلك. تُبرَم النهايات المكشوفة من كلا السلكين للتوصل إلى ضفيرة ملساء تنطبق بإحكام في المطراف عندما يُرخى اللولب (الشكل 10.2).

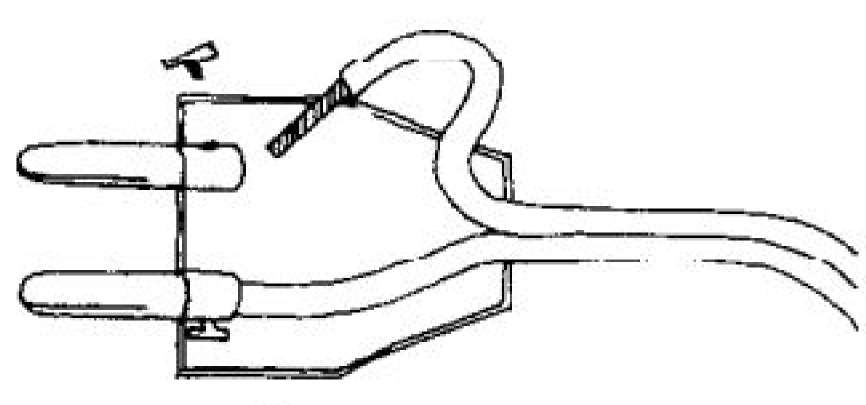
تُدخل كل نهاية مُعَرَّاة في مطراف من مطرافي القابس ثم تُوَثَّق لوالب المطراف ويعاد المطرافان إلى مكانيهما (الشكل 11.2). ويجب أن تكون اللوالب ممسكة بالأسلاك جيداً، وللتأكد من ذلك يُشَدُّ السلكان إلى الخارج بلطف.



الشكل 9.2. مأخذ ثنائي الدبابيس.



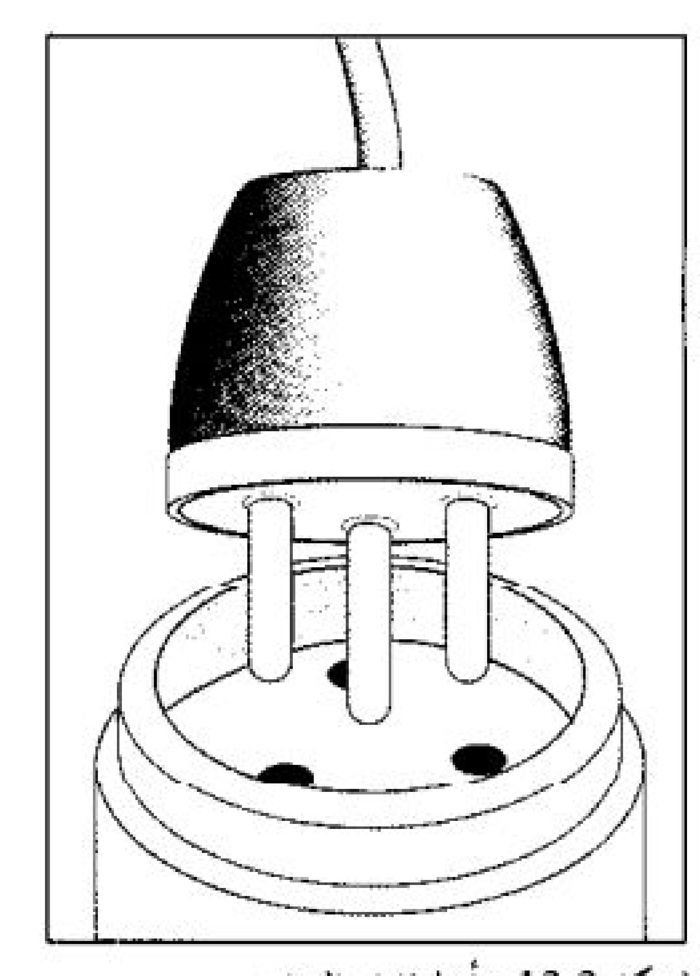
الشكل 10.2. برم النهايتين المكشوفتين من كلا السلكين.

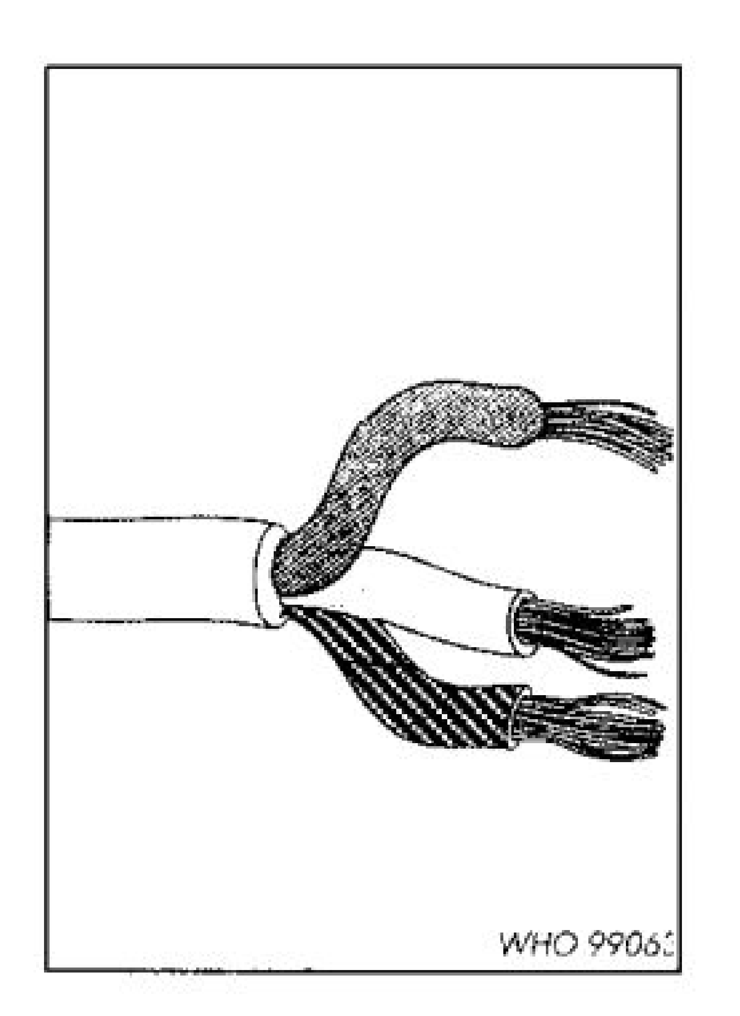


الشكل 11.2. بعد إدخال كل نهاية مكشوفة في أحد مطرافي المأخذ، ثبّت لوالب المطرافين.

المأخذ ثلاثي الدبابيس

يوصل دبوسان منها بالتيار الكهربائي، أحدهما مشحون بتيار كهربائي والثاني متعادل؛ أما الدبوس الثالث (وهو الأوسط عادة) فيوصل بالأرض. ومن المهم جداً وصل كلٍ من الأسلاك الثلاثة التي في الكبل بالدبوس الصحيح. والعادة أن يحتوي القابس على تعليمات ينبغي اتباعها بدقة؛ وإذا خامرنا أي شك فعلينا أن نستشير كهربائياً (عامل كهرباء).



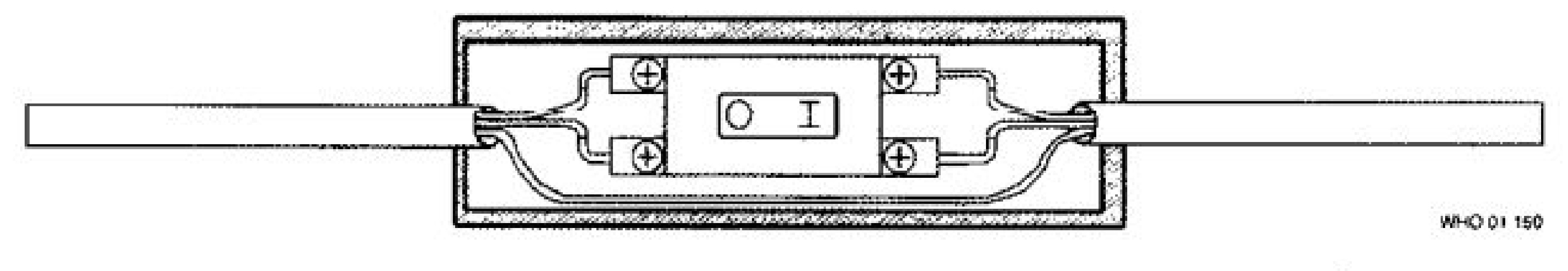


الشكل 12.2. مأخذ ثلاثي الدبابيس.

يكون السلك الأرضي مستوراً بغمد عازل ملون بالأخضر أو باللونين الأخضر والأصفر (الشكل 12.2)، وهو يؤمّن مَهْرَباً للتيار الكهربائي في حالة العزل السيئ مما يَقِي من مرور التيار خلال جسم الإنسان.

التحقق من الكبل أو البدالة

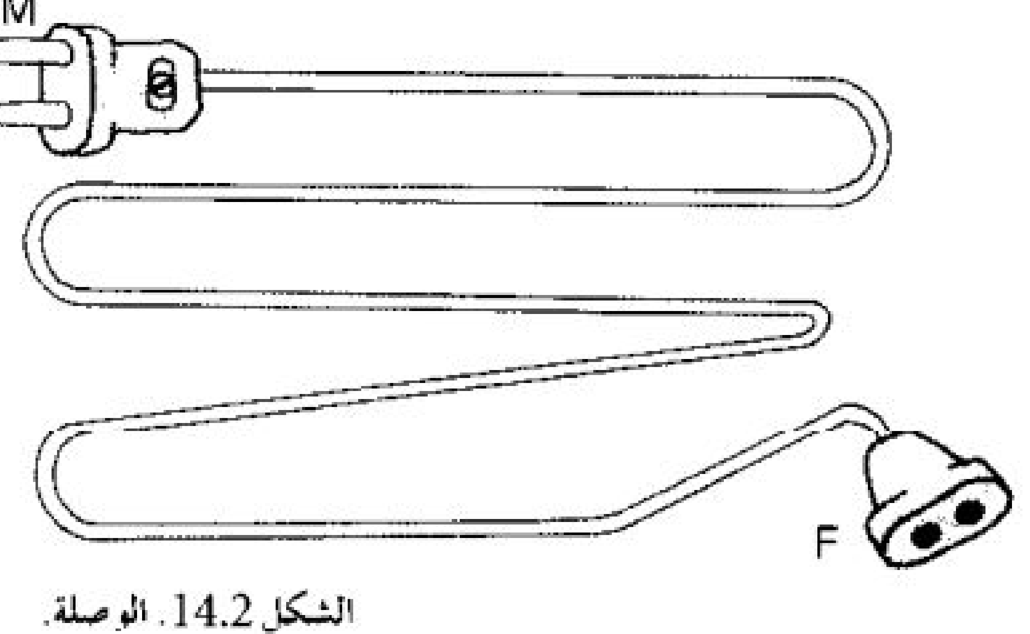
إذا احترق الكبل أو انقطع فينبغي استدعاء الكهرباويّ لإعادة الوصل طبقاً لأنظمة السلامة النافذة. هنالك أنماط متعددة من البدالات القلاّبة، وكلها ينبغي أن تفك وتفتح للتحقق من أنها تعمل بشكل جيد. ويجب التأكد من أن كلاً من السلكين الداخلين والسلكين الخارجين مثبّتان جيداً في مطرافيهما باللوالب 1 و 2 و 3 و 4 (الشكل 13.2).



الشكل 13.2. المِفتح.

الوصلة

الوصلة هي كبل ذو مأخذ مذكر في أحد طرفيه ومأخذ مؤنث في الطرف الآخر (الشكل 14.2). ويُثبَّت المؤنث بالكبل بواسطة المطرافين الموجودين في داخله، مثل تثبيته في المأخذ المذكر عادة.



الشكل 14.2. الوصلة.

التحقق من المقبس الجداري

للتحقق من مقبس جداري يدخل فيه مصباحٌ شَغَّال. وقد تكون بعض المقابس مزوَّدة بفاصمة صغيرة يمكن استبدالها، فإذا لم يكن المقبس من هذا النوع فينبغي استدعاء الكهرباويّ لإصلاح المقبس الجداري.

احتياطات

- إيّاك أن تَفُكَّ جهازاً كهربائياً قبل أن تقطع التيار.
- إيّاك أن تلمسَ جهازاً كهربائياً بأيدٍ مبتلّة (فالماء مُوَصِّل جيد للتيار).

- إيّاك أن تصل جهازاً جديداً إلى التيار الكهربائي قبل التدقيق في لوحته للتأكد من أن الفولطاج المسجل عليه هو نفس فولطاج تيار المختبر (110 ڤولط، 220 ڤولط، الخ ...).
- إيّاك أن تَنتزِعَ المأخذ من المَقْبَس بجذب الكبل.
- إيّاك أن تَستبدِلَ بسلك الفاصمة سلكاً أثخن منه.

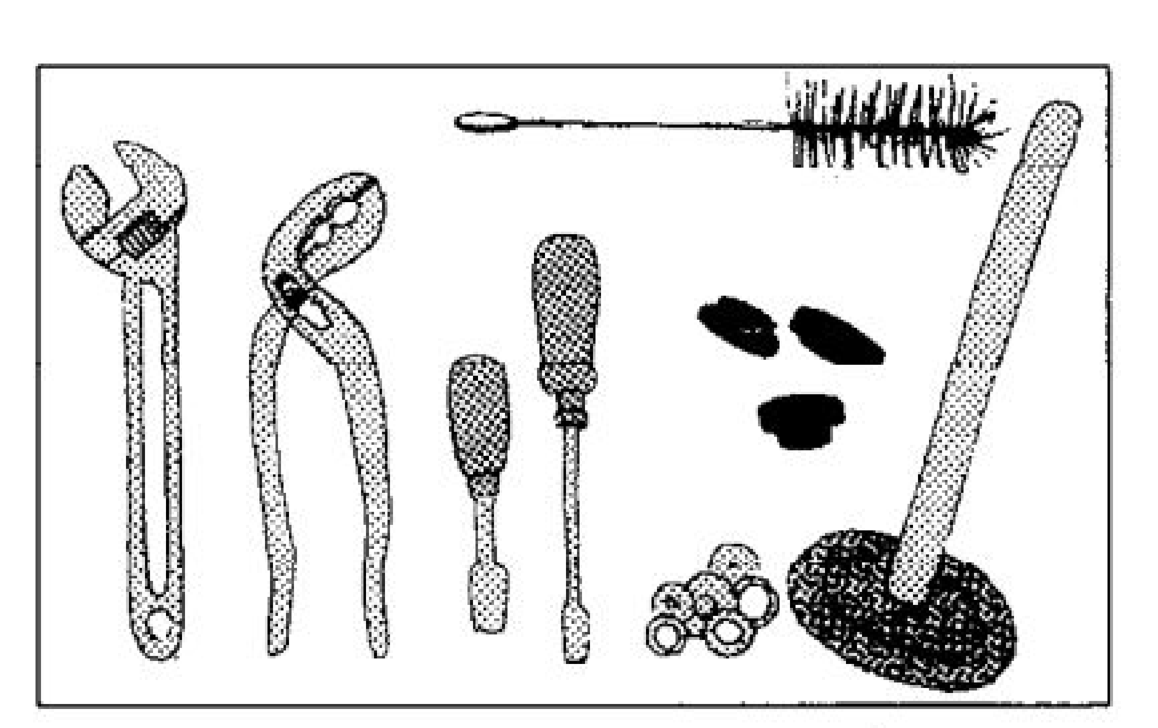
3.2 السباكة plumbing: الإجراءات البسيطة

إن خللاً في سباكة المختبر (حنفية فَالتَة، مغسلة مَسْطُومة، الخ ...) يمكن أن يعوق العمل المختبري إلى حد كبير؛ وفيما يلي بعض الإجراءات البسيطة لمعالجة الوضع في حالة عدم توافر أحد السباكين بسهولة.

1.3.2 الأدوات والمواد (الشكل 15.2)

- مِفْكاك (مفتاح ربط) قابل للعيار.
- مِفْكاك المواسير.
- مجموعة من المِفَكّات.
- فِرْشاة القوارير.
- حلقات أو فَلْكات مطاطية للحنفيات.
- سدادات مطاطية كالمستعملة في سد قوارير البنيسيلين.
- نَفَّاضَة (خَضَّاضَة) لتنظيف الأنابيب أو المواسير المسطومة.
- خيوط (نُسالة الكتان أو القنب) tow ومعجون اللِحَام لإحكام سد الوصلات، إن أمكن.

ملاحظة هامة: قبل الشروع في أية عملية سباكةٍ، يجب قطع الماء من خط الماء الرئيسي.



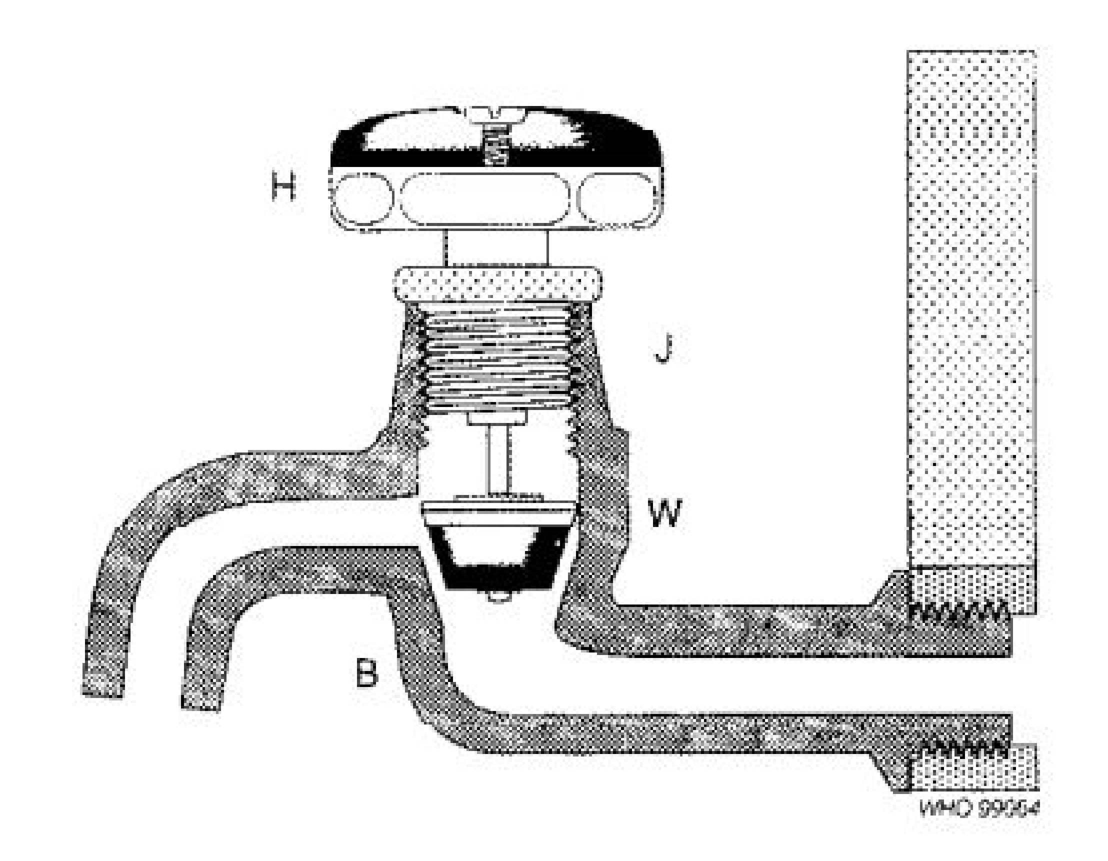
الشكل 15.2. الأدوات والمواد المستعملة في تصليحات السباكة.

2.3.2 الحنفيّات taps

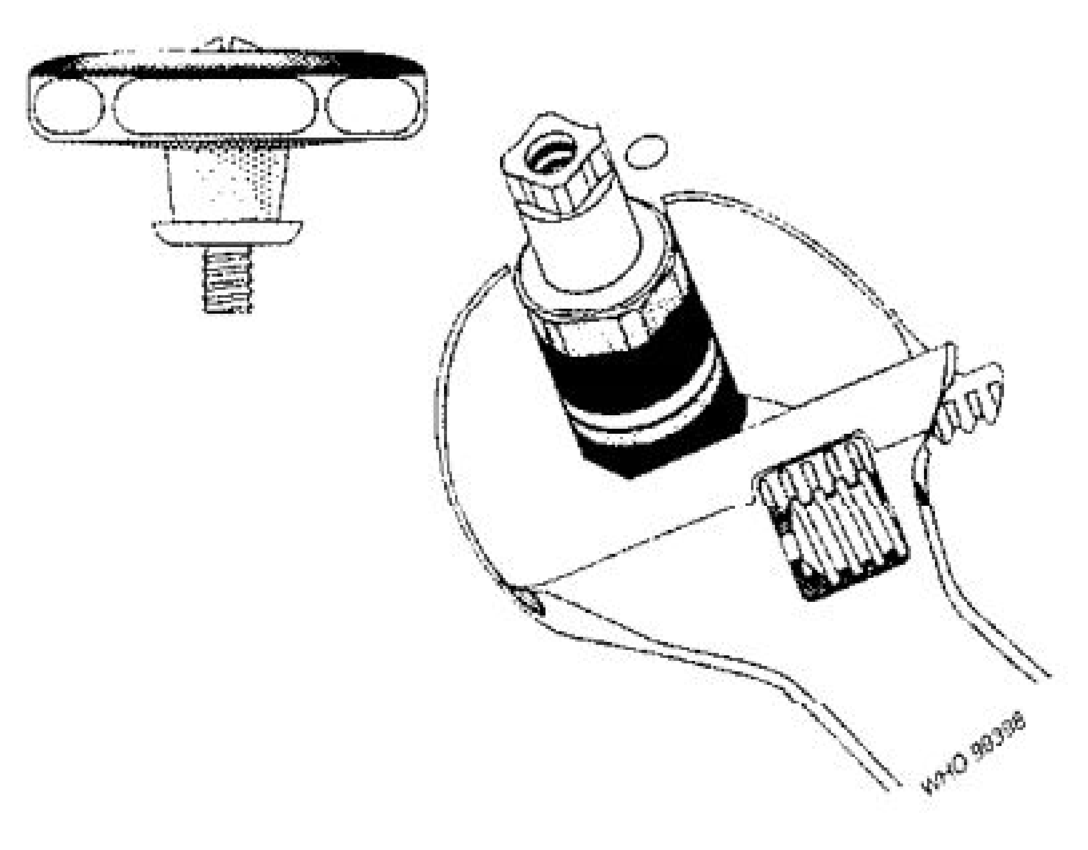
تتكون الحنفية من جزأين اثنين (الشكل 16.2):

- الجسم (B) الذي ينساب الماء من خلاله.
- الرأس (H) الذي يتحكم في جريان الماء بواسطة حلقة مطاطية أو فَلْكَةٍ من المطاط (W).

وتوجد بين الرأس والجسم وصلة (J) من المطاط أو المُشَاقة.



الشكل 16.2. مكونات الحنفية.

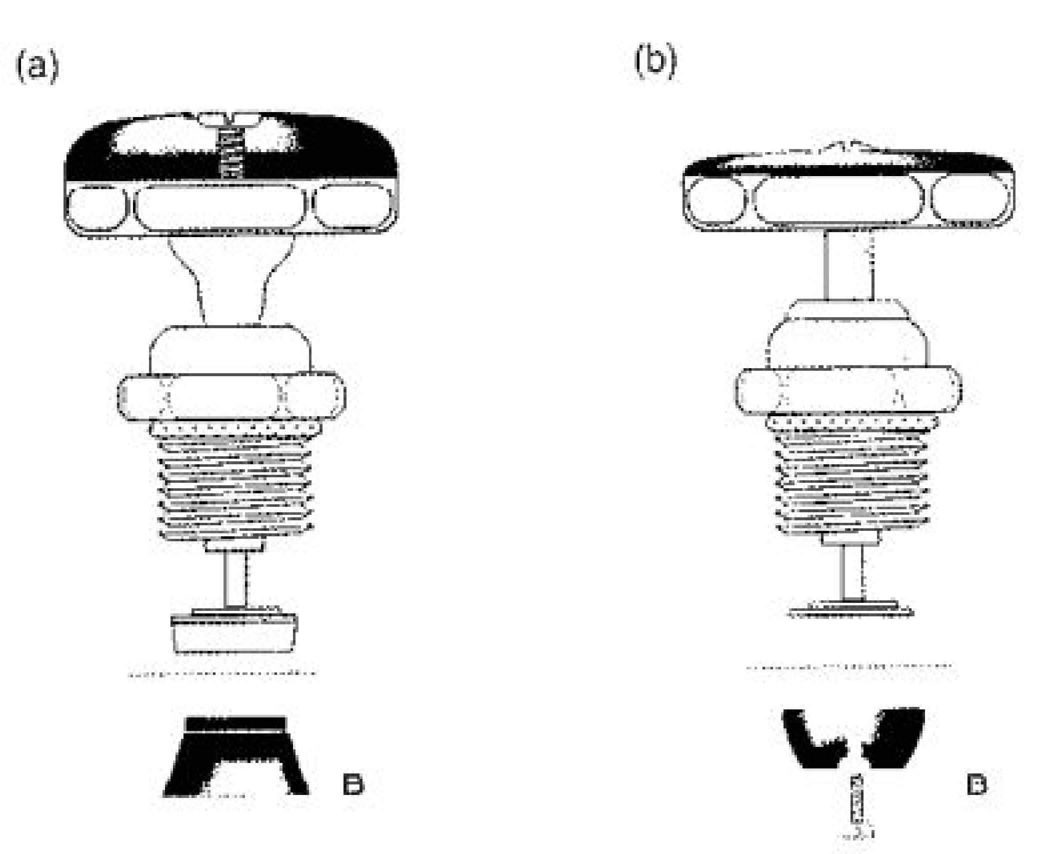


الشكل 17.2 نزع رأس الحنفية

ما العمل إذا كان الماء يجري بعد إغلاق الحنفية؟

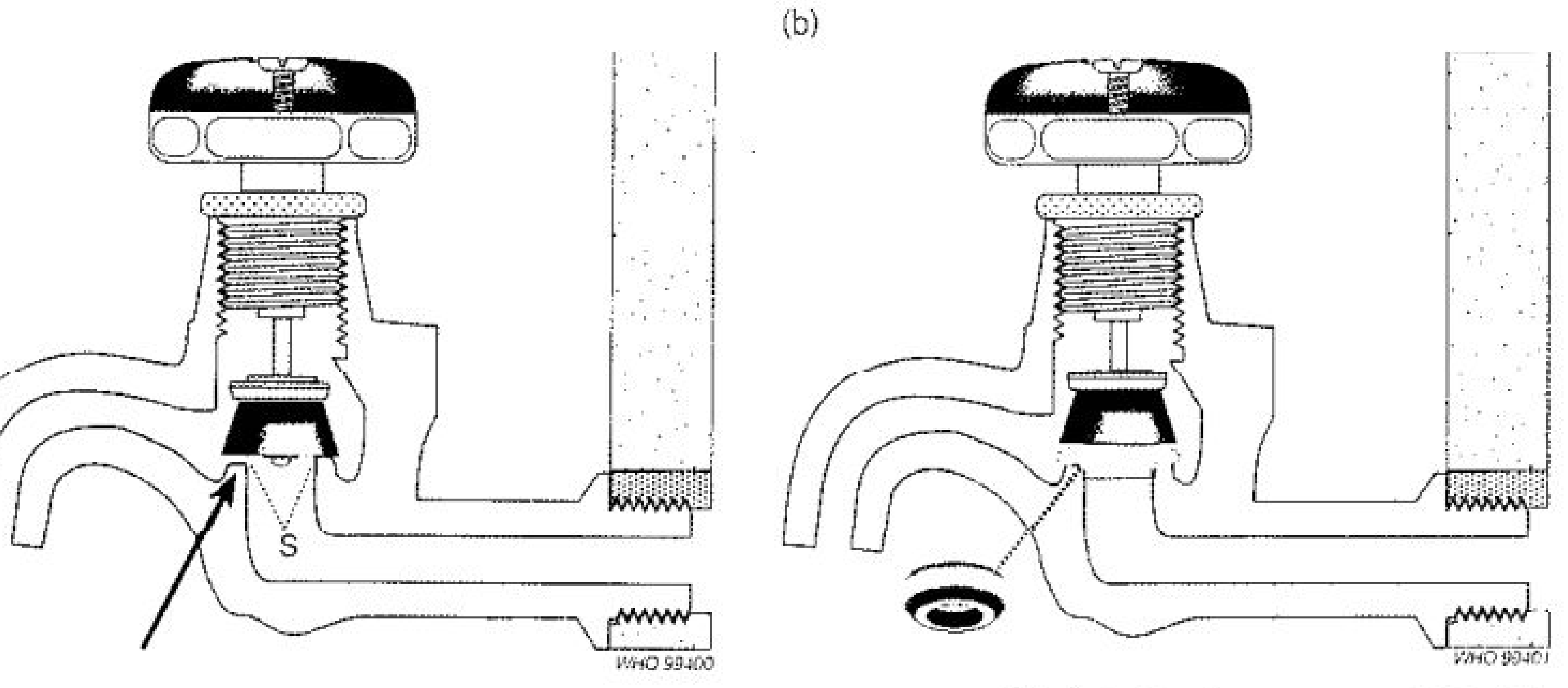
إذا استمر الماء بالجريان بعد إغلاق الحنفية فإن الفلكة بحاجة إلى تغيير.

1. يُفَكّ رأس الحنفية باستعمال المِفْكاك القابل للعيار (ويُدَوَّر بعكس عقارب الساعة) (الشكل 17.2).
2. تنزع الحلقة المطاطية أو الفلكة المتآكلة من قاعدة الرأس (B) (الشكل 18.2): فإذا كانت مطمورة في هذه القاعدة تُستخرَج منها (الشكل 18.2 أ)، وإذا كانت مثبتة بها بلولب (الشكل 18.2 ب) يُفَكُّ اللولب.
3. يستبدل بها حلقة مطاطية أو فلكة جديدة من نفس النمط.
4. إذا واصلت الحنفية تسريبها بعد استبدال الحلقة المطاطية أو الفلكة، فقد يكون الخلل في المُسْتَقَرّ (S) الذي تستقر فيه الحلقة المطاطية أو الفلكة (الشكل 19.2 أ)، وفي هذه الحالة توضع سدادة مطاطية في الثقب (الشكل 19.2 ب).



الشكل 18.2. استبدال الحلقة المطاطية أو الفلكة.
B: قاعدة رأس الحنفية.

إن هذا يعمل كختم موقّت ريثما يصل السباك.



الشكل 19.2. إصلاح مستقر الحلقة المطاطية أو الفلكة.
S: المستقر.

ما العمل إذا كان الماء يتسرب من رأس الحنفية؟

إذا كان الماء يتسرب من رأس الحنفية فالوصلة بحاجة إلى استبدال.

يُفكّ رأس الحنفية باستعمال المِفْكاك القابل للعيار.

تستبدل بالوصلة وصلة جديدة من نفس النمط.

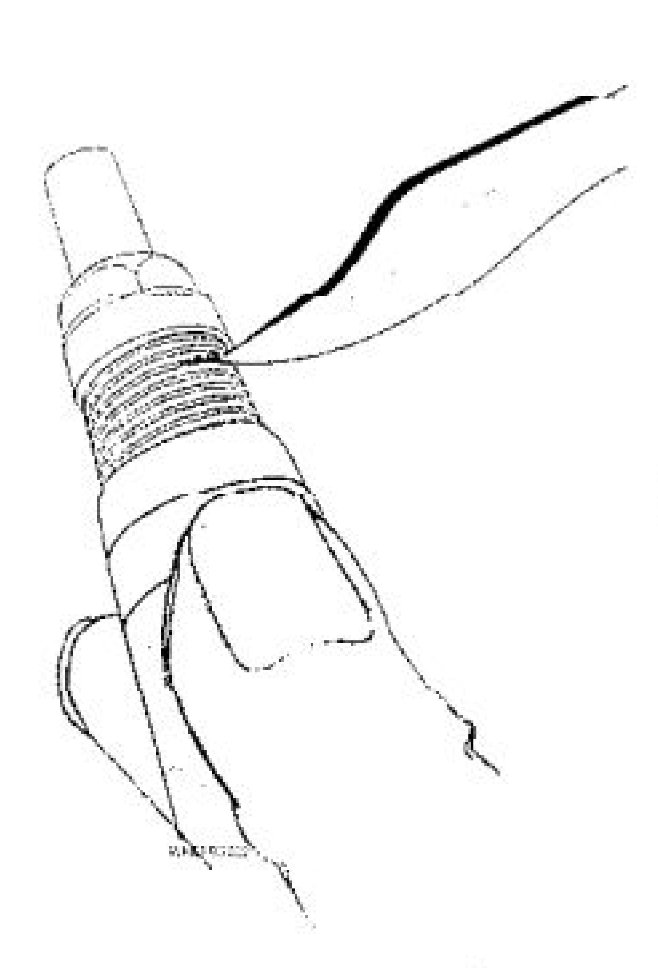
إذا كانت الوصلة من المشاقة:

تُنزع الوصلة القديمة مع حكّ أخدود اللولب بسكين حادة (الشكل 20.2).

ثم تُلَفّ خيوط أو مشاقةٌ جديدة حول أخدود اللولب، بدءاً من القمة وباتجاه عقارب الساعة (الشكل 21.2).

يُطلى بمعجون اللِحام فوق الخيوط أو المشاقة (الشكل 22.2).

يُعاد رأس الحنفية إلى موضعه من جسمها، ويُفتل نحو الأسفل بقدر المستطاع.

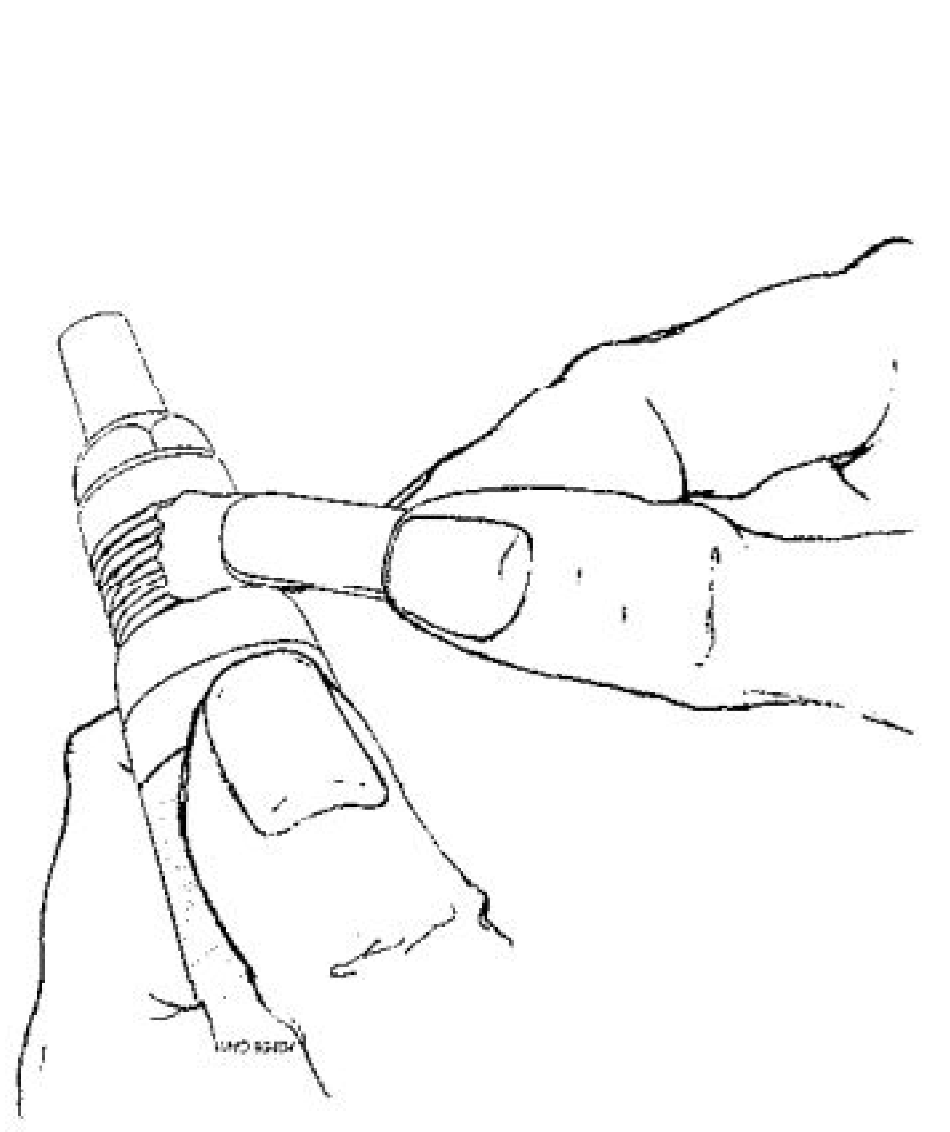


الشكل 20.2. نزع المشاقة من حول أخدود اللولب.

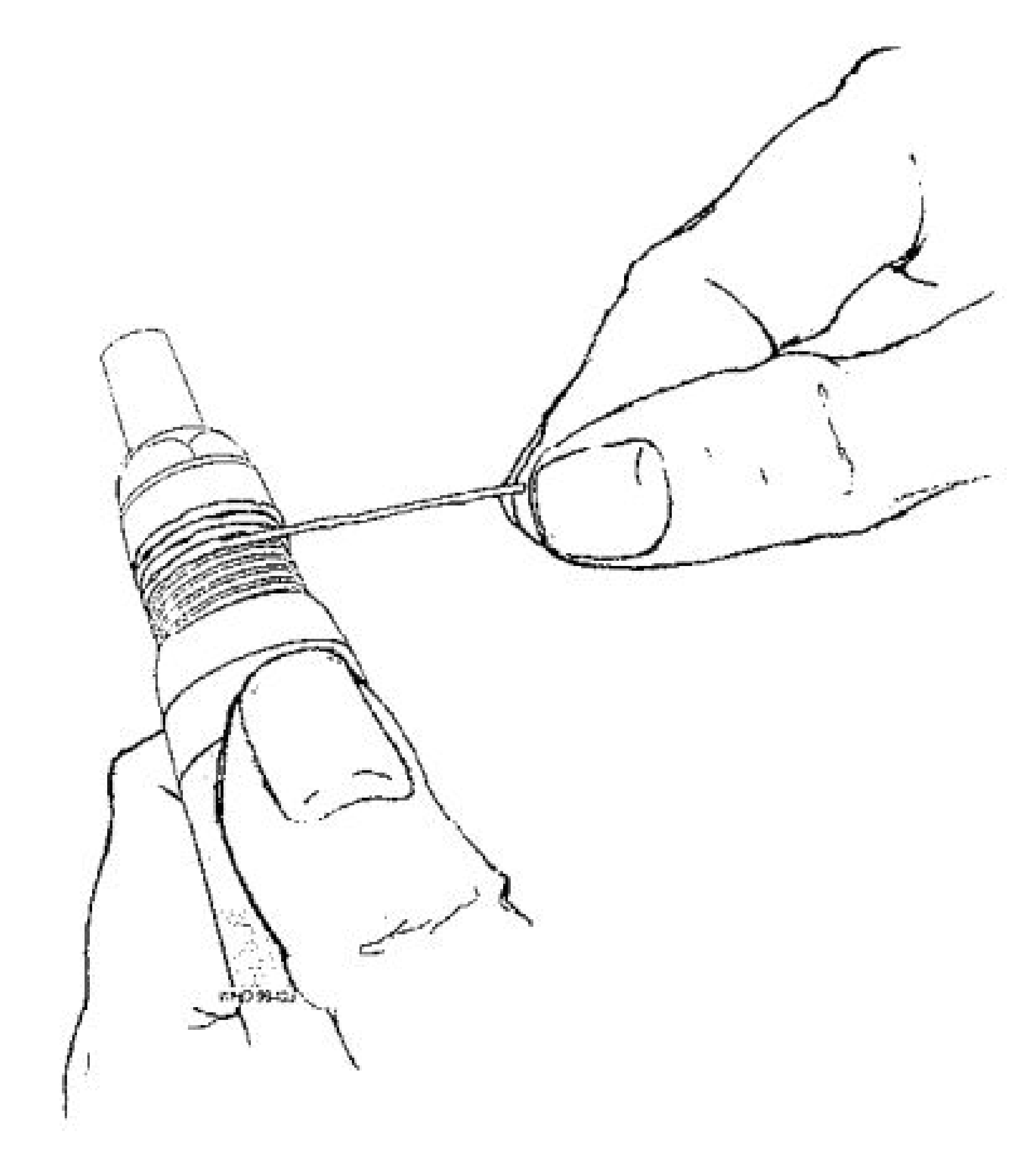
استبدال الحنفية بكاملها (الشكل 23.2)

تُفَكّ الحنفية العاطلة باستعمال مِفْكاك المواسير (بتدويره بعكس عقارب الساعة).

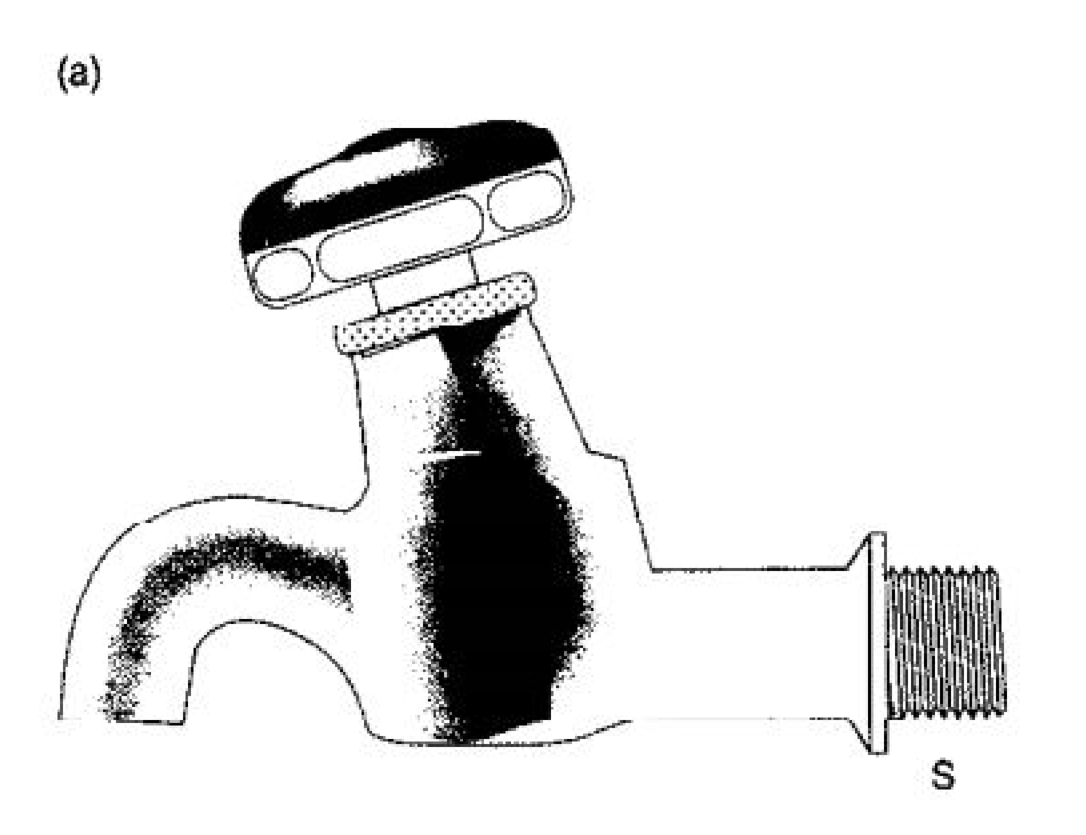
تؤخذ حنفية أخرى ينتهي جسمها بمُولَب كبير (الشكل 23.2 A)، وتُلفّ خيوط أو مشاقةُ حول أخدود اللولب وتُطلى بمعجون اللِحام كما تقدَّم.

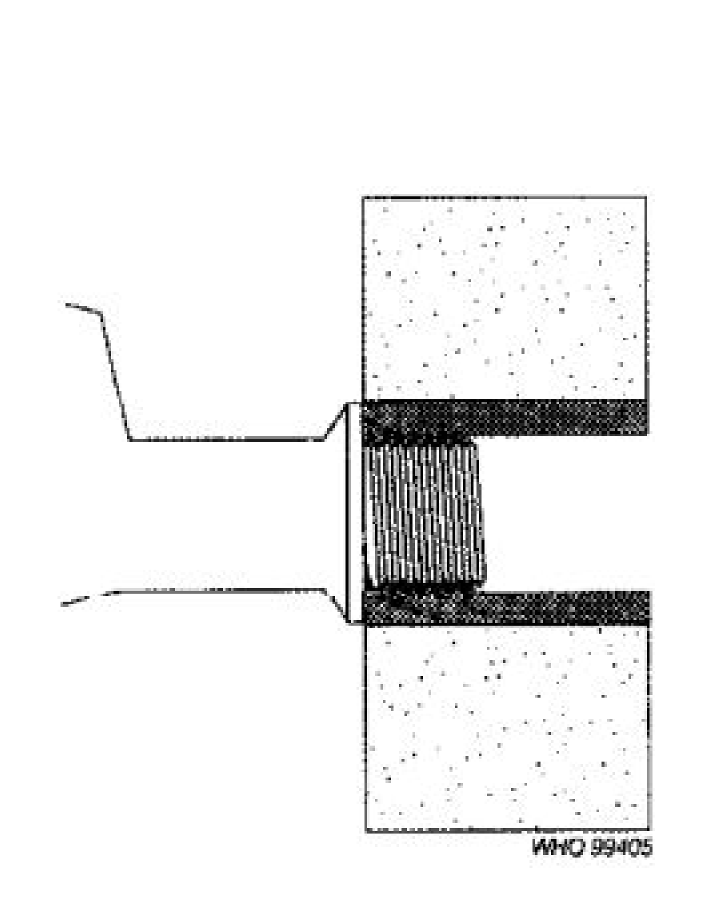


الشكل 22.2. تطبيق معجون اللحام فوق الخيوط أو المشاقة.



الشكل 21.2. لف خيوط أو مشاقة جديدة حول اللولب.





الشكل 23.2. استبدال الحنفية.
S: اللولب.

تُلَوْلَبُ الحنفية الجديدة في ماسورة الماء الجدارية مكان الحنفية القديمة (الشكل 23.2 (B))، ونُشَدُّ الحنفية الجديده بالمفكاك.

3.3.2 محابس المجاري sink traps

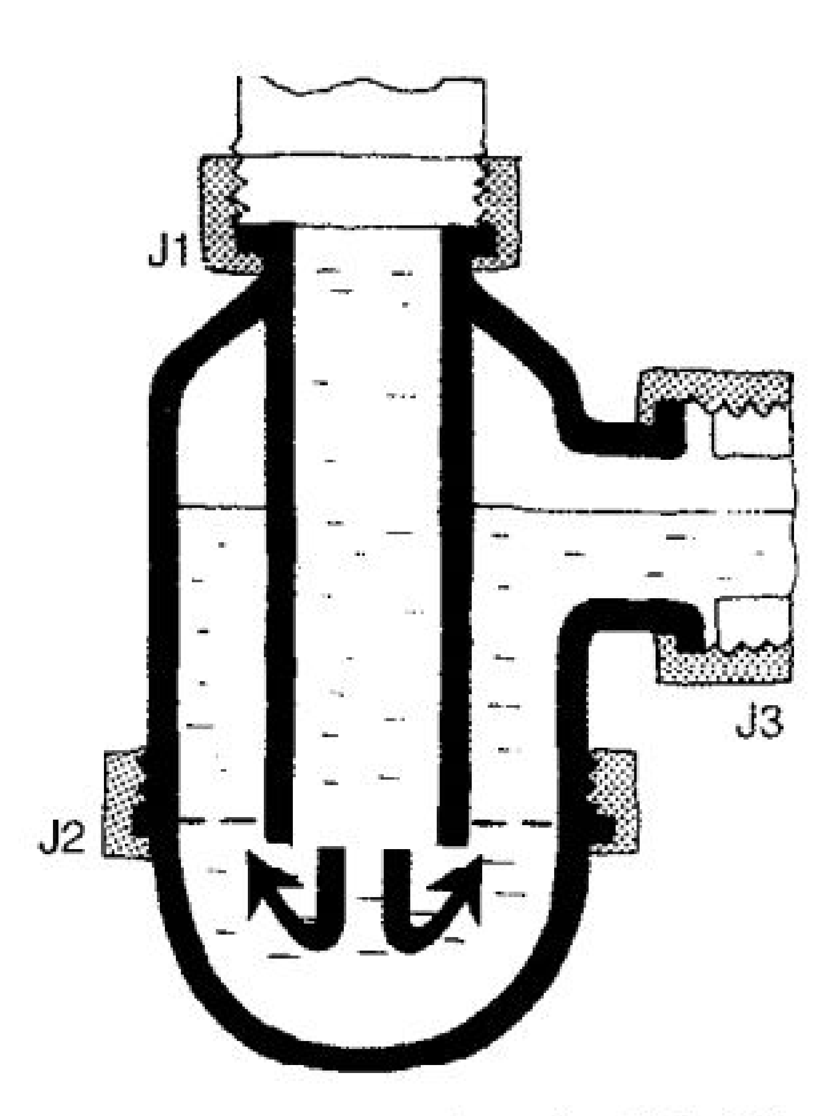
مكونات المحبس (الشكل 24.2)

يتكون المحبس مما يلي:

- الجسم، المُثَبَّت في مخرج المغسلة بالوَصلة (J1)؛
- عنق المحبس الذي يكون بشكل U وهو مثبت بالجسم بالوَصلة (J2)؛

ويتصل مجمل المحبس بماسورة التصريف بالوصلة (J3).

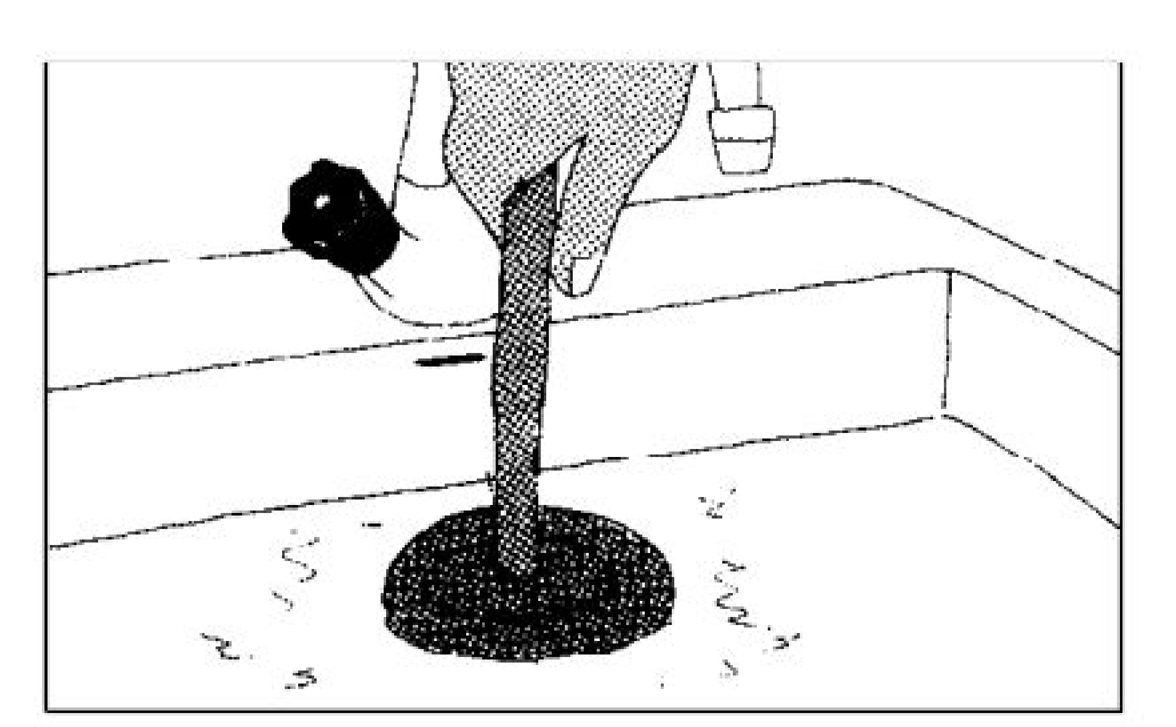
ينساب الماء المراد تصريفه من خلال المحبس بحيث يكون دائماً مملوءاً بالماء (مانع للتسرب) مما يمنع الهواء الكريه الرائحة الذي يأتي من المواسير والمجارير من العودة والخروج من المغسلة وقد ينسد هذا المحبس بحيث لايمكن تصريف الماء من المغسلة.



الشكل 24.2. مكونات المحبس.

التسليك بالغطاس

يوضع الغطاس فوق ماسورة التصريف (البالوعة)، ويُسال قليل من الماء حولها لتسهيل التصاقها، ثم يُضغط على المقبض الخشبي لينبسط الغطاس (الشكل 25.2). يُسحب ثم يكبس ثانية بقوة، ويُعاد هذا الإجراء مراراً بأسرع ما يمكن، فكثيراً ما يؤدي المص الحاصل إلى زحزحة ما أدى إلى سد المغسلة.



الشكل 25.2. تسليك المغسلة بالنفاضة.

التَسْليك بالكيماويات

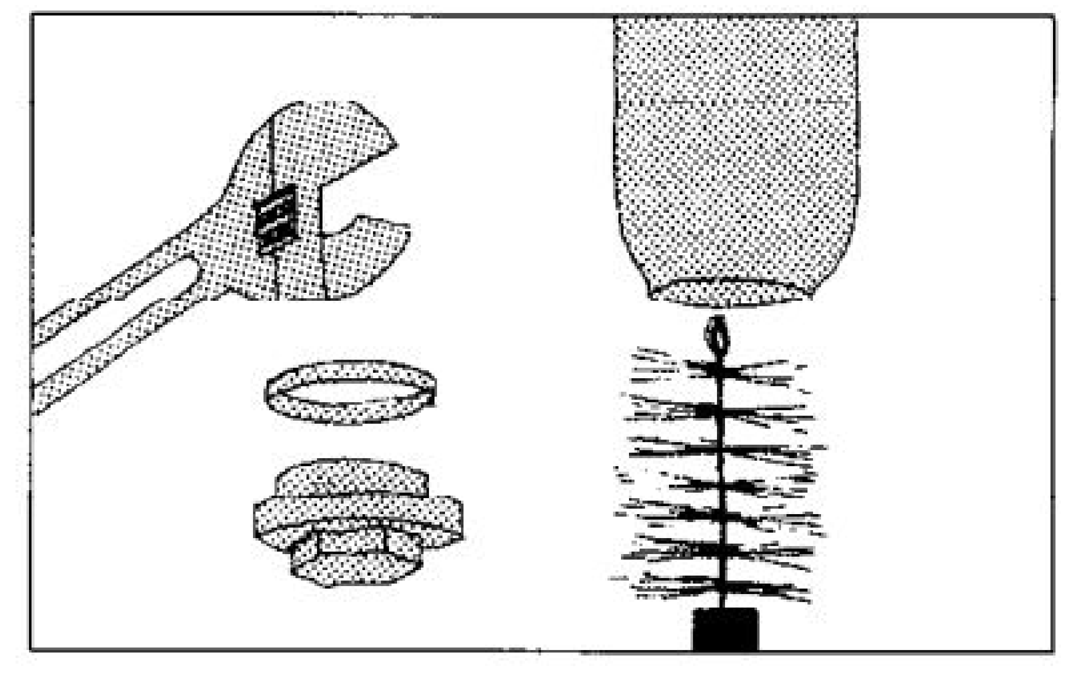
يستعمل ناتج تجاري معد لهذا الغرض؛ فإذا لم يتوافر يؤخذ 250 غ من حبيبات هيدروكسيد الصوديوم، وتوضع هذه الحبيبات في قاع المغسلة أو الحوض فوق بالوعتها، ويسكب لتران من الماء الغالي على الحبيبات (ويحاذر من الرَشَاش والتَطَايُر)، ويترك الكل يتفاعل خمس دقائق، ثم تُشْطَفُ المغسلة جيداً بالماء البارد من الحنفية.

التَسْلِيك بتفريغ المحبس

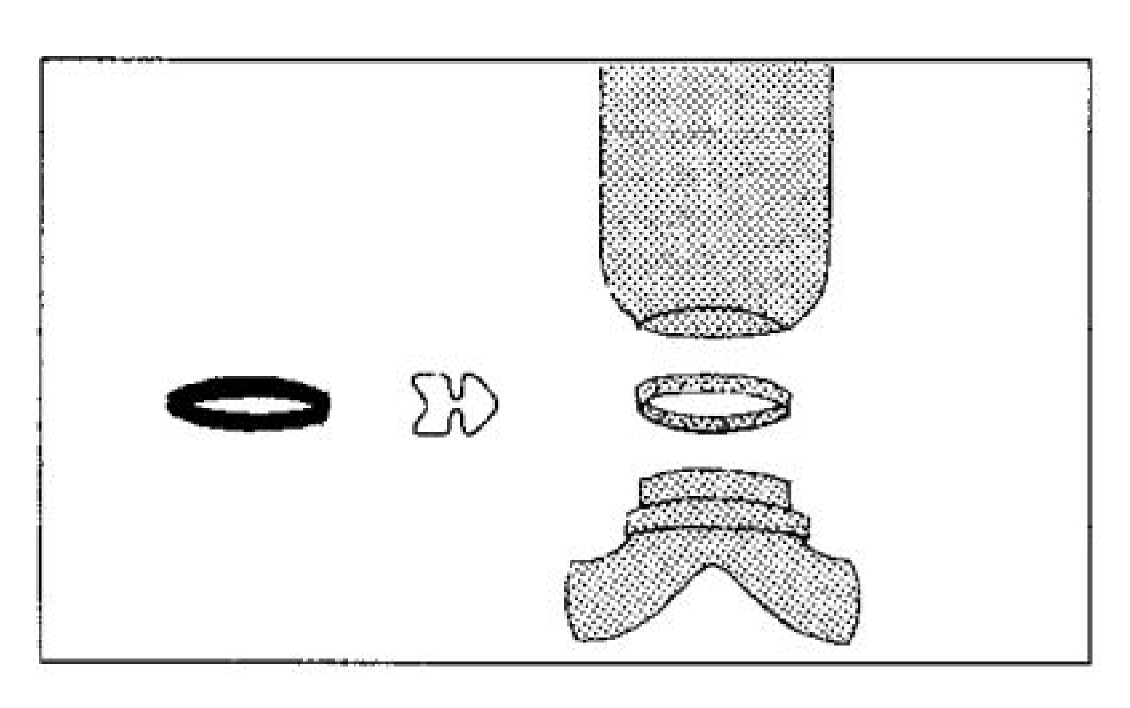
يوضع سطل تحت المحبس وتُفَكّ الوصلة (J2) باستعمال مفتاح (مفكاك) قابل للعيار (الشكل 26.2).
ثم ينظّف المحبس بفرشاة القوارير أو بسلك معدني، وتُماط كل الأقذار الموجودة. وإذا وجد راسب أبيض (كلسي) في المحبس يُفكّ المحبس برمّته، وتسخّن مكوناته في حمض الأسيتيك المخفّف (20 مل من الحمض في لتر من الماء)، ثم يعاد تجميع المحبس.

ما العمل إذا كان المحبس يُسَرّب

إذا انطلقت رائحة كريهة من بالوعة المغسلة، فمعنى ذلك أن المستودع الدائم للماء (مانع التسرب) في قاع المحبس يُسرّب نتيجة خَلَل في الوصلة (J2)، فإما أن تُشدّ الوصلة بإحكام وإما أن تستبدل بها وصلة جديدة (الشكل 27.2).
ملاحظة هامة: إياك أن تَصُبّ حموضاً قوية في المغسلة إذ يمكنها أن تسبب انتكالاً.



الشكل 26.2. تسليك المغسلة بتفريغ المحبس.



الشكل 27.2. استبدال مانع التسرب في قاع المحبس.

4.2 الماء المستعمل في المختبر

يحتاج المختبر الطبي إلى إمداد مائي كافٍ للقيام بأعماله، فهو يحتاج إلى:
- ماء نظيف.
- ماء مقطر.
- ماء مُزَال المعادن (إن أمكن).
- ماء مَذْرو (إن أمكن).

1.4.2 الماء النظيف clean water

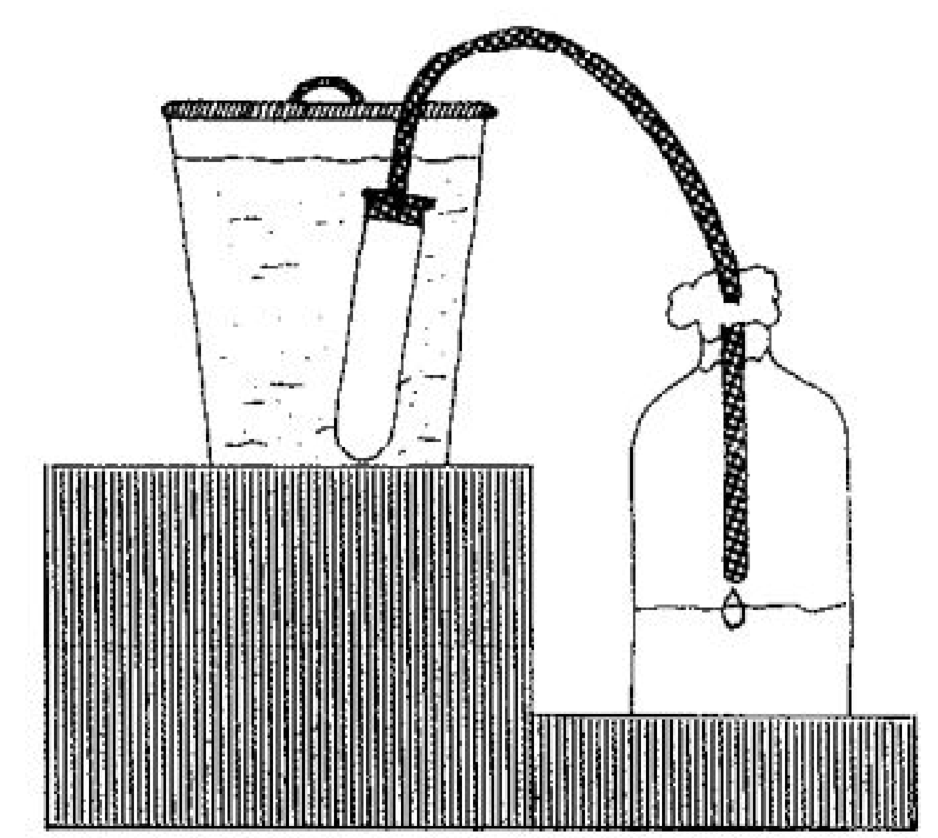
للتحقق ما إذا كان إمداد الماء نظيفاً تُملأ قارورة بالماء، وتُترَك ثلاث ساعات لترقد، ثم يُفحَص قاع القارورة فإذا كان هنالك راسب فإن الماء يحتاج إلى ترشيح.

الترشيح

باستعمال البورسلين المسامي غير المصقول أو مُرَشِّح الزجاج المُحجَّر

يمكن وصل هذا النمط من المرشح بحنفية، أو يمكن أن يُغْمَر في وعاء يحتوي على الماء المراد ترشيحه (الشكل 28.2).

ملاحظة هامة: إن المرشح من هذا النمط يجب فكُّ ردائه مرة كل شهر وغسله بالماء المرشح المغلي.



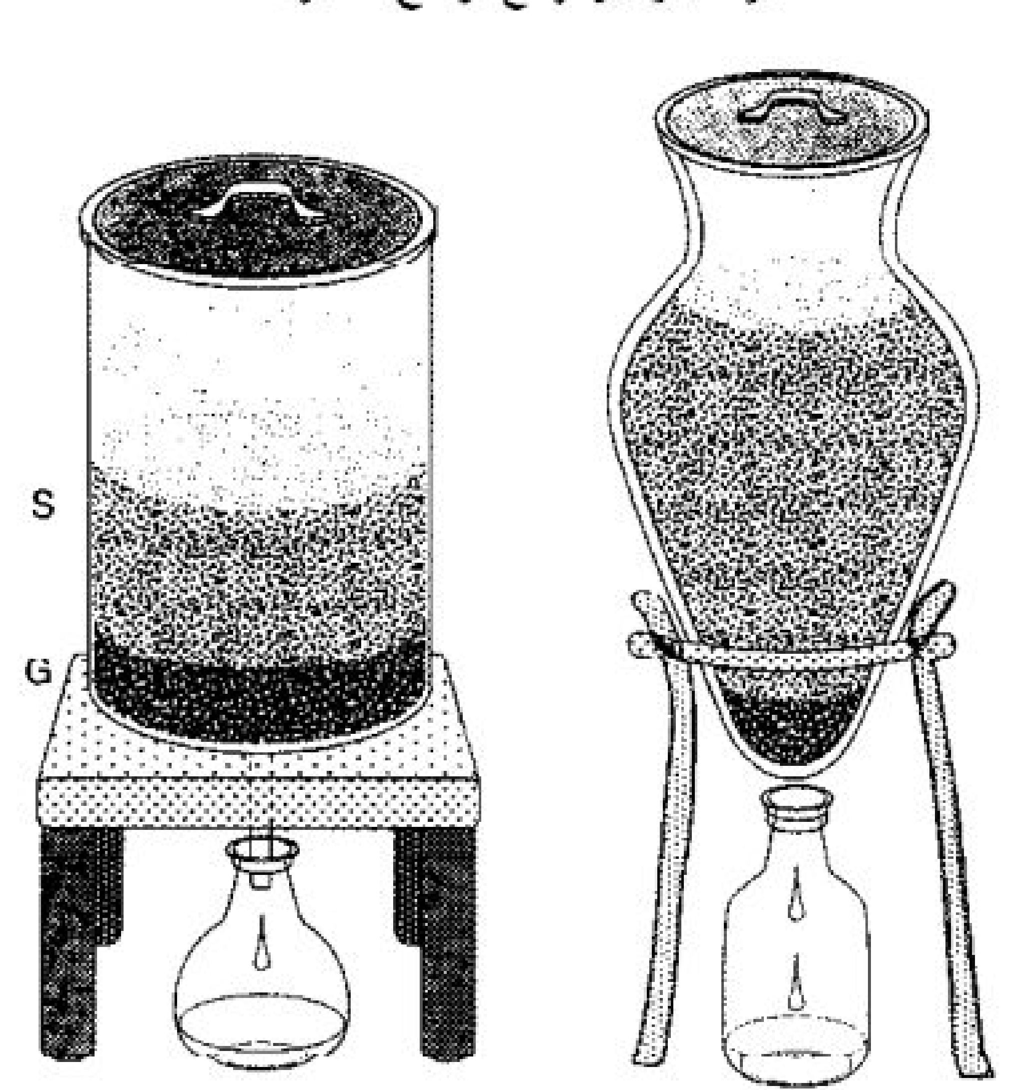
الشكل 28.2. ترشيح الماء باستعمال البورسلين المسامي غير المصقول أو مُرَشِّح الزجاج المُحجَّر.

باستعمال المُرَشِّح الرملي

يمكن صنع المرشح الرملي في المختبر، وتحتاج في سبيل ذلك إلى ما يلي (الشكل 29.2):

- مستودع للترشيح (وعاء كبير مثل برميل معدني أو قِدْر خَزَفِيَّة كبيرة أو دلو مثقوبة).
- رمل (G).
- حصى (S).

ملاحظة: إن الماء المرشح عبر مرشح رملي يكون خالياً تقريباً من الجسيمات، ولكنه يمكن أن يحوي مركبات كيميائية ذَوَّابة في الماء فضلاً عن الجراثيم.



الشكل 29.2. ترشيح الماء باستعمال مرشح رملي.
G: حصى؛ S: رمل.

تخزين الماء

إذا كان الماء شحيحاً أو يأتي من خزانات أو آبار فينبغي دائماً الاحتفاظ بكميات كبيرة منه مُختَزَنَة، ويفضَّل أن يكون ذلك في أوانٍ من الزجاج أو البلاستيك. وينبغي أن يُبانَ الماء الذي اختزن قبل ترشيحه.

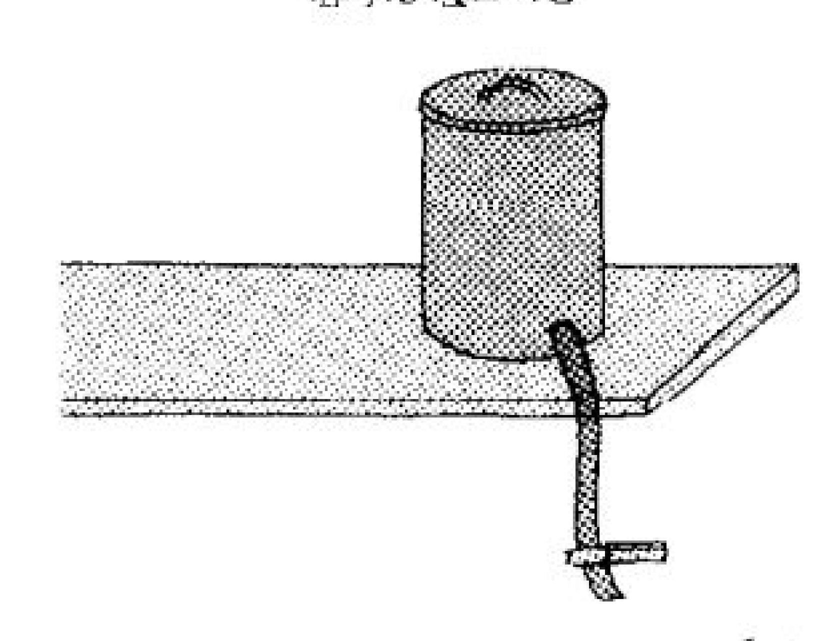
الإمداد بالماء

إذا لم يكن هناك ماء جارٍ في المختبر فيمكن عمل موزع على الوجه التالي (انظر: الشكل 30.2):

يوضع إناء الماء على رف مرتفع.

يُوصل أنبوب مطاطي بالإناء بحيث يستطيع الماء أن يسيل إلى الأسفل.

يُلْقَط الأنبوبُ المطاطي بِمِشْبَك «مور» أو بِمِلْقاط صغير ذي لولب.



الشكل 30.2. موزع للماء.

2.4.2 الماء المقطر distilled water

يكون الماء المقطر خالياً من المركبات غير الطيارة (مثل المعادن) ولكنه يمكن أن يحوي مركبات عضوية طيارة.

التحضير

يُحَضَّر الماء المقطر باستعمال مِقْطار (جهاز تقطير) still، إذ يُسَخَّن فيه الماء العادي حتى نقطة الغليان، ويُبَرَّد البخار الناتج بإمراره عبر أنبوب مُبَرِّد حيث يتكاثف بشكل ماء مقطر.

تتوافر الأنماط التالية من أجهزة التقطير:

- أجهزة التقطير المصنوعة من النحاس أو الفولاذ المقاوم للصدأ (الإنبيق alembic).
- أجهزة التقطير الزجاجية.
- أجهزة التقطير الشمسية.

وتسخن أجهزة التقطير بالغاز أو الكيروسين (زيت الكاز) أو بالكهرباء أو بالطاقة الشمسية بحسب النمط المستعمل.

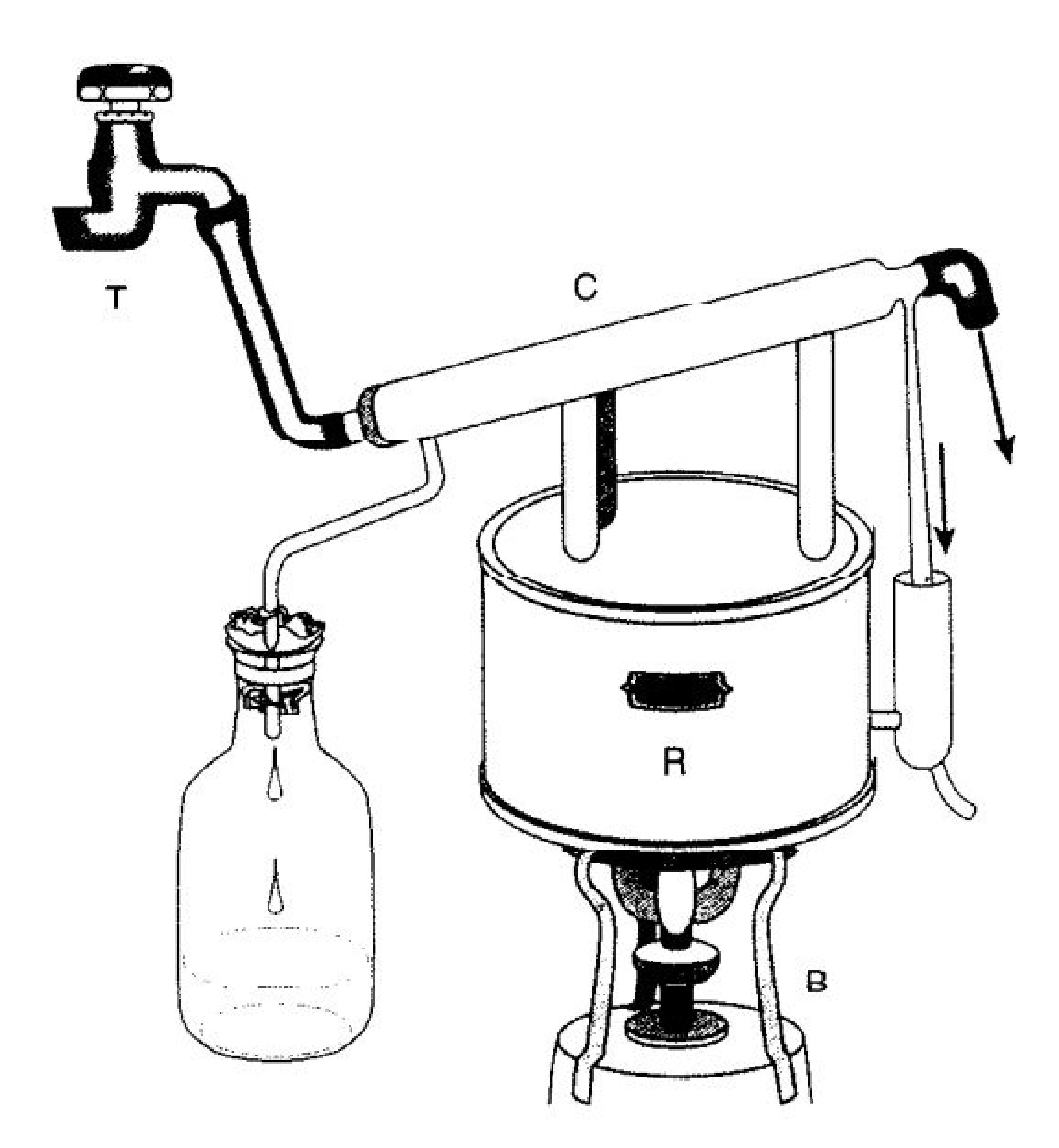
أنابيق النحاس أو الفولاذ المقاوم للصدأ(الشكل 31.2)

يُملأ المستودع (أو الخزان) (R) بالماء المراد تقطيره.

يُوصَل أنبوب الماء البارد (T) بحنفية.

يُسخَّن الخزان بواسطة مِلْهَب بنزن (B)، أو مَوْقِد كيروسين (زيت الكاز).

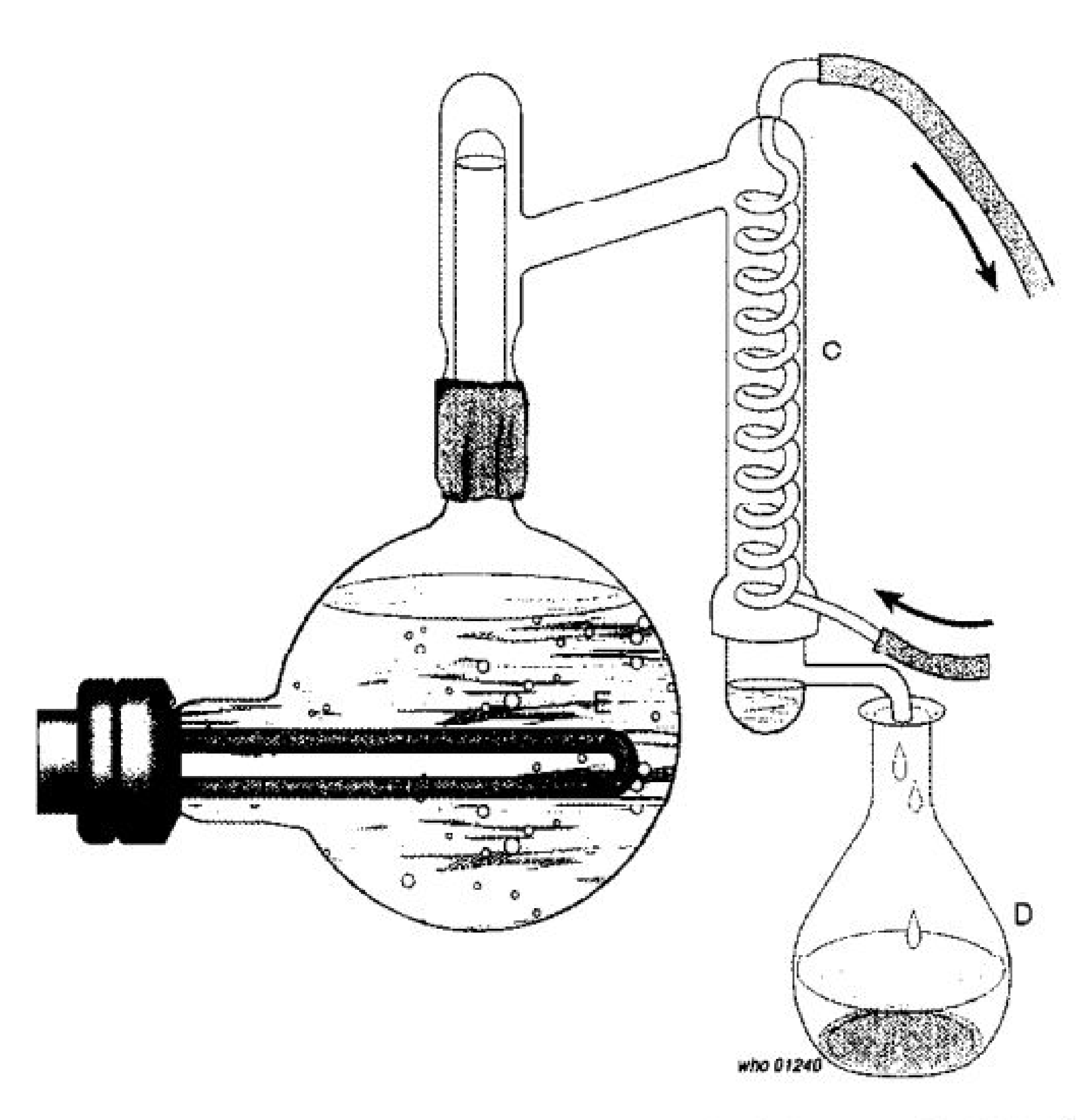
يمكن لجهاز التقطير أن ينتج لتراً أو لترين من الماء المقطر بالساعة حسب كفاءة نظام التسخين.



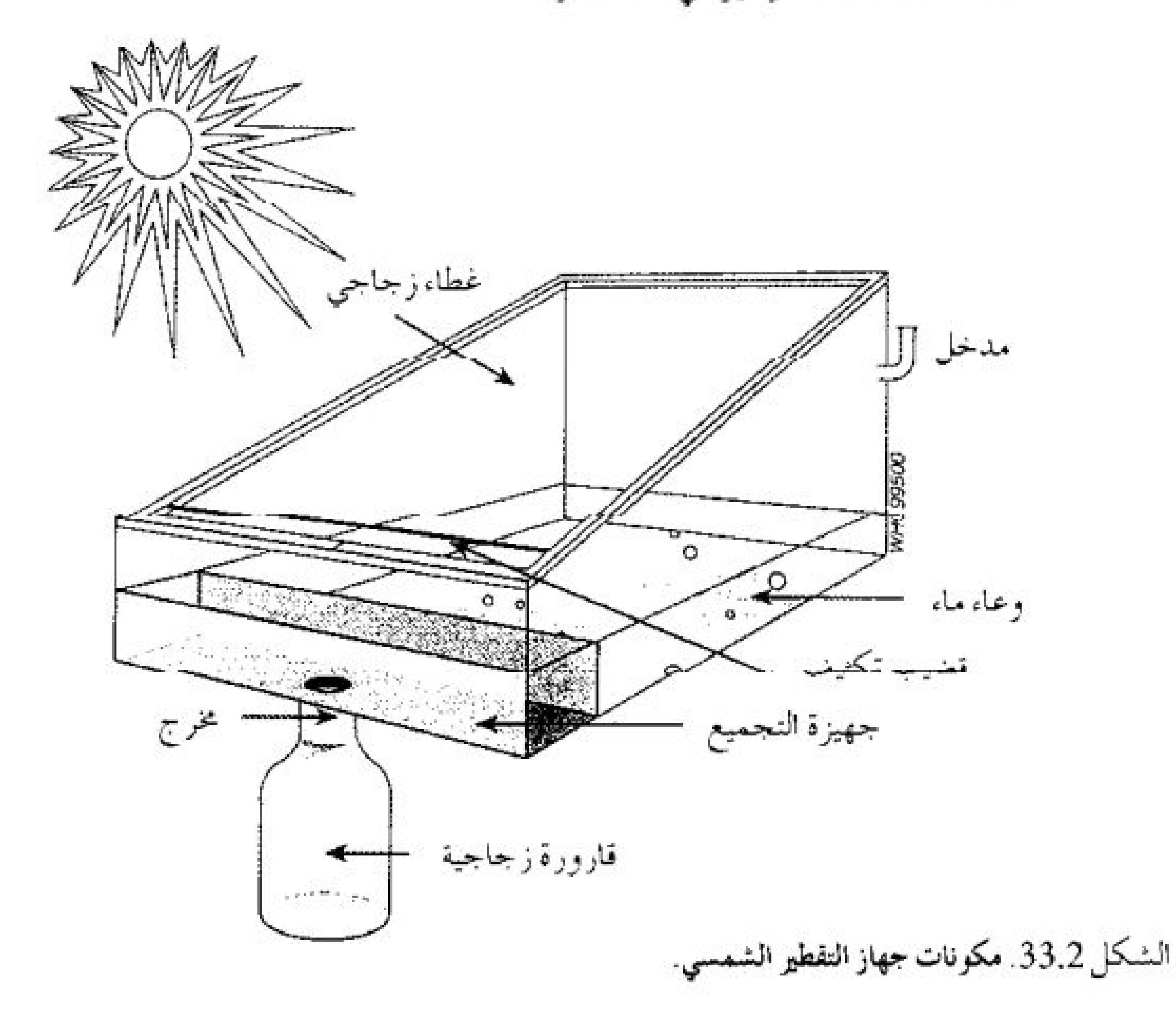
الشكل 31.2. **مكونات إنبيق النحاس أو الفولاذ المقاوم للصدأ.**

أجهزة التقطير الزجاجية(الشكل 32.2)

هذه أسرع عطباً ولكنها تنتج ماء أنقى من أجهزة التقطير المعدنية، وتكون طريقة التقطير هي نفسها، مع التأكد من أن الماء الجاري يدور بحرية حول المكثف (C). ويمكن للماء أن يسخن في الحوجلة بفضل سخان كهربائي



الشكل 32.2. **مكونات جهاز التقطير الزجاجي.**
C: المكثف ؛ E: عنصر كهربائي ؛ D: مقطر



الشكل 33.2. **مكونات جهاز التقطير الشمسي.**

أجهزة التقطير الشمسية (الشكل 33.2)

بالنسبة للمختبرات الموجودة في المناطق البعيدة وذات الموارد المحدودة فيمكن أن يُرَكّب جهاز تقطير بسيط يعمل الطاقة الشمسية، وذلك باستعمال وعاء بلاستيكي نظيف ذي حجرتين (واحدة كبيرة والأخرى صغيرة) وسطح كبير يوضع فوقه غطاء زجاجي بشكل مائل.

يُصب الماء في الحجرة الكبيرة التي يتبخر منها بواسطة الشمس، ويتكثف الماء على الغطاء الزجاجي ويتقطر في الحجرة الصغيرة التي يوجد مَخْرَج في قاعدتها يمكن أن يمر عبره الماء المقطر إلى قارورة زجاجية موضوعة تحت الوعاء.

يمكن في الأقاليم المدارية إنتاج 2–7 ل من الماء المقطر يومياً من جهاز تقطير شمسي ذي سطح 1 م^2.

ملاحظة هامة:

- يجمع الماء المقطر في وعاء من الزجاج أو البلاستيك.
- لا يقطر الربع الأخير من الماء المسخن.

مراقبة الجودة

إن باهاء pH الماء المقطر هي عادة ما بين 5.0 و 5.5 (أي إنه حمضي).

يستعمل محلول مائي لنترات الفضة ($AgNO_3$) بمقدار 17 غرام باللتر (17 غ في 1 لتر من المحلول أي 1.7%) (الكاشف رقم 49) للتحقق من النقاوة.

يوضع في دورق:

- 10 مل من الماء المقطر.
- قطرتان من حمض النتريك.
- 1 مل من محلول نترات الفضة.

ينبغي أن يبقى الماء رائقاً تماماً.

فإذا ظهر عكر أبيض خفيف فإن جودة الماء تكون متدنّية.

الاستعمالات

يستعمل الماء المقطر لتحضير الكواشف وللشطف الأخير لبعض الزجاجيات قبل تجفيفها.

ملاحظة هامة:

- لا تَسْتَعْمِل الماءَ المقطر التجاريَّ (ذلك الذي يباع لملء بطاريات السيارات) لتحضير الكواشف المختبرية.
- الماء المقطر المحضر حديثاً مُفَضَّلٌ، فإذا لم يكن ذلك متوافراً فيستعمل الماء المقطر المخزن في أوانٍ من الزجاج أو البلاستيك على أن تنسل دورياً.
- يُسْتَعْمَل دائماً الماءُ المقطَّرُ المُحَضَّرُ في نفس الأسبوع.

3.4.2 الماء المُزال المعادن demineralized water

المبدأ

هو ماء خالٍ من الشوارد ولكن ليس بالضرورة من المركبات العضوية.

التحضير

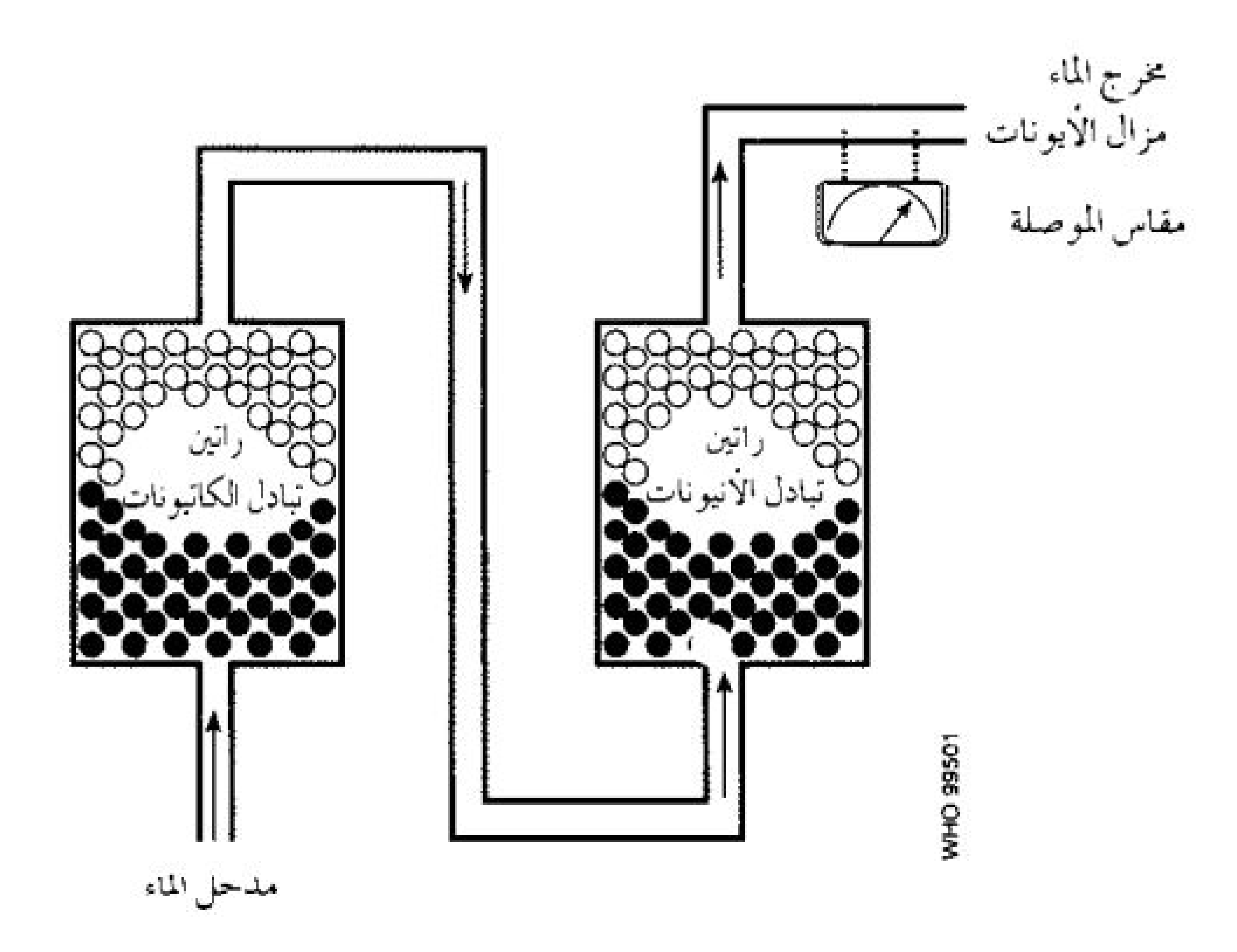
يحضر الماء المزال المعادن بإمرار الماء العادي من خلال عمود من الراتين المُبَادِل للأيونات (الشوارد) ion–exchange resin. ويتألف الجهاز من خرطوشة طويلة مملوءة بحُبَيْبَات الراتين المبادل للأيونات حيث يرشح الماء من خلال حبيبات العمود التي تحتفظ بكل الأيونات المعدنية (أي كل الأملاح المعدنية الذائبة)، وتملك بعض الأجهزة المزيلة للمعادن demineralizers خرطوشتين يمر عبرهما الماء بالتتابع (الشكل 34.2).

1 – يُتَحَقَّق من أن الخرطوشة مملوءة تماماً بحبيبات الراتين المبادل للأيونات.

2 – يوصل مدخل أنبوب الجهاز إلى مصدر الماء (حَنَفِيّة أو خزان صغير موضوع في أعلى الجهاز)، وفي بعض النماذج ينساب الماء على قمة العمود وفي بعضها يدخل من القعر.

3 – يترك الماء ينساب ببطء.

4 – يجمع الماء المزال المعادن في وعاء مغلق.



الشكل 34.2. جهاز مزيل للمعادن.

مراقبة الجودة

الجهاز ذو المِشْوَر control dial

يسجل هذا الجهاز مُقَاوَمِيَّة resistiVity الماء المتعلقة بوجود الأيونات فكلما كانت إزالة المعادن من الماء كاملة كانت مقاومية الماء للكهرباء أعلى.

1 – التأكد من أن جملة التحقق مربوطة جيداً مع البطارية بشكل حسن.

2 – التأكد من أن البطارية مشحونة، يضغط على الزر المكتوب عليه «اختبار الصفر» فالإبرة على المِشْوَر يجب أن تشير إلى الصفر (الشكل 2. 35 a) .

3 – يمرر الماء في الخرطوشة.

4 – عندما يبدأ الماء المزال المعادن بالخروج من النهاية الثانية يضغط على الزر الخاص بـ «إختبار الماء» فالابرة يجب أن تشير لأكثر من 2 ميغا أوم / سم (الشكل 2. 35 b).

5 وإذا وقفت الابرة تحت 2 ميغا أوم / سم أو كانت على الصفر فيجب استبدال الخرطوشة لأنها قد استخدمت لفترة أطول مما ينبغي.

ويمكن للأجهزة أن تقيس المقاومة (بالميغا أوم / سم) أو قيماً مقابلة لها.

جهاز من دون مِشْوَر للمراقبة

باستعمال ورقٍ مُشْعِرٍ يُعَيَّن:

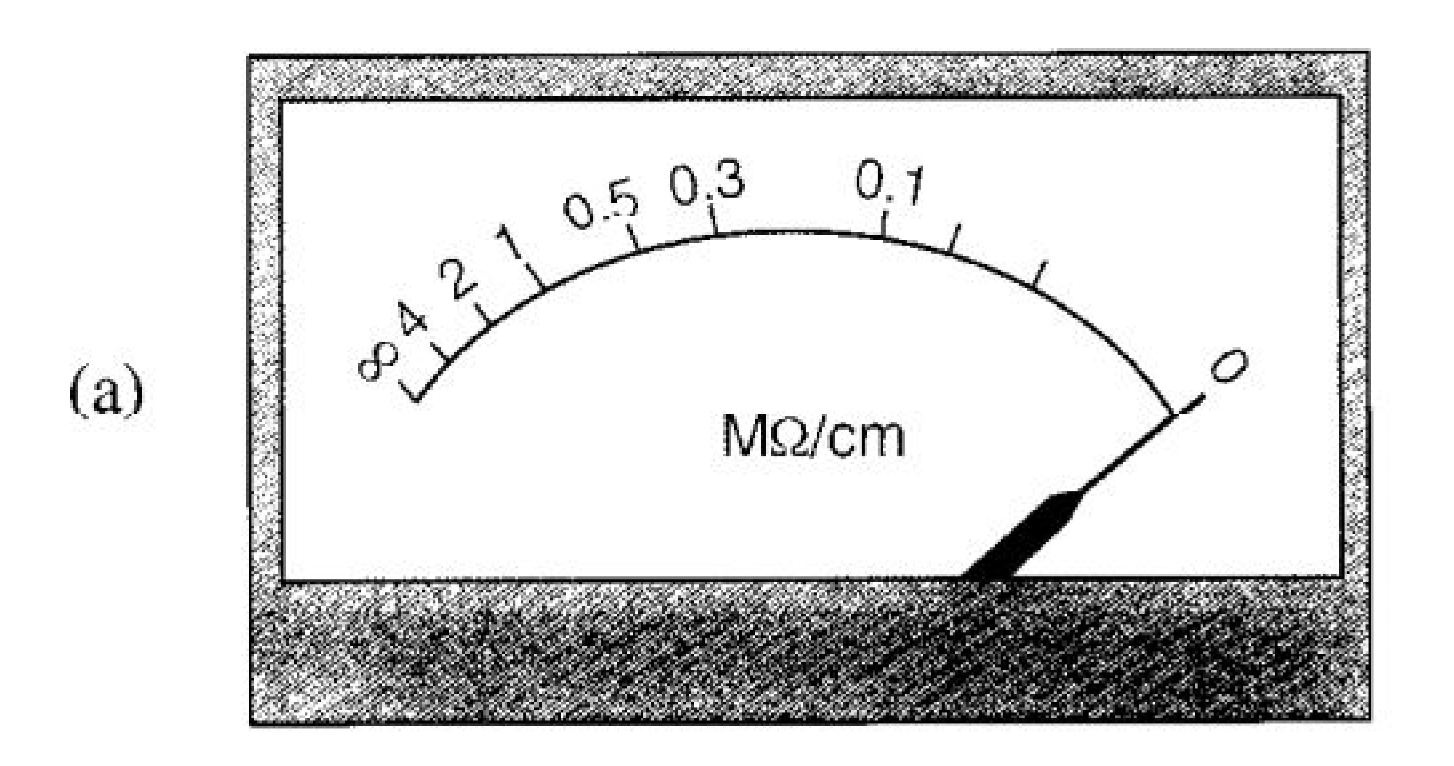
– باهاء pH الماء العادي المُلَقَّم إلى الجهاز، و

– باهاء الماء المزال المعادن الذي ينساب من النهاية الأخرى.

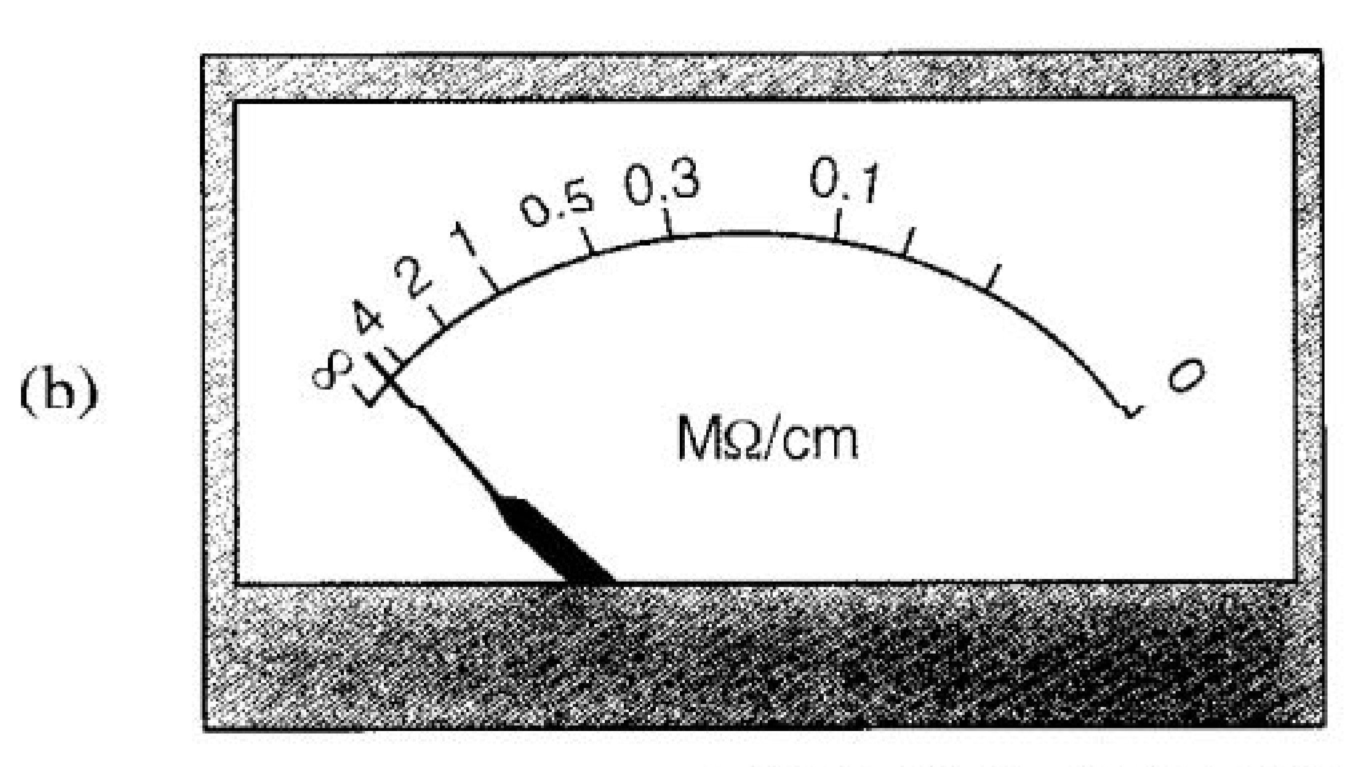
إذا بقيت الباهاء كما هي (عادة أقل من 6.5) فإن الراتين لم يعد فعالاً لأن الماء المزال المعادن ينبغي أن تكون باهاؤه بين 6.6 و 7.0.

وهنالك تَحَقُّقٌ إضافي يمكن أن يُجرى باستعمال محلول مائي لنترات الفضة ($AgNO_3$) بمقدار 17 غ/ل (1.7%) (الكاشف رقم 49). يُمَرَّر محلول ضعيف لكلوريد الصوديوم (ملح الطعام) خلال الراتين، ثم يُجرى الاختبار الموصوف في الفقرة 2.4.2 لمراقبة جودة الماء المقطر فإذا ظهر عكر أبيض خفيف فإنه يجب استبدال الراتين.

(a)



(b)



الشكل 35.2. قياس مقاومية الماء المزال المعادن.

تَبدُّل لون الراتين

إذا تبدل لون الراتين (مثلاً: اسودّ)، فتُراجَع تعليمات الاستعمال التي يزوِّد بها الصانع.

قد يحتاج الراتين إلى الاستنشاط أو الاستبدال كما هو موصوف أدناه.

استبدال أو استنشاط reactivation الراتين المبادل للأيونات

يمكن إجراء ذلك بإحدى الطرق الآتية تبعاً للطراز المستعمل:

- يمكن أن يُستبدلَ بخرطوشة أخرى مملوءةٌ بحبيبات الراتين المبادل للأيونات وجاهزةٌ للاستعمال.
- يمكن أن يعاد ملء عمود الجهاز بالراتين المبادل للأيونات أو بمزيج من الراتينَيْن.
- يمكن أن يُعاد استعمال الراتين المبادل للأيونات المُسْتَنْفَد بعد استنشاطه أي بعد إمرار محلولٍ من الأمونيا عبر الجهاز. تُتبع تعليمات الاستعمال التي يزود بها الصانع.

الاستعمالات

يمكن استعمال الماء المزال المعادن في :

- شطف الزجاجيات قبل تجفيفها؛
- تحضير كل الكواشف المستعملة تقريباً في المُخْتَبَرات الطبية بما في ذلك الملونات.

4.4.2 الماء المَدْرُوء buffered water

الماء المقطر عادةً حمضيٌ ، والماء المزال المعادن يصبح حمضياً بتعرُّضه إلى الهواء. ولكن هنالك عدداً من الإجراءات المختبرية (تحضير الملونات ، الخ..) ينبغي أن تكون باهاء pH الماء فيها حوالي 7.0 (ماء متعادل)

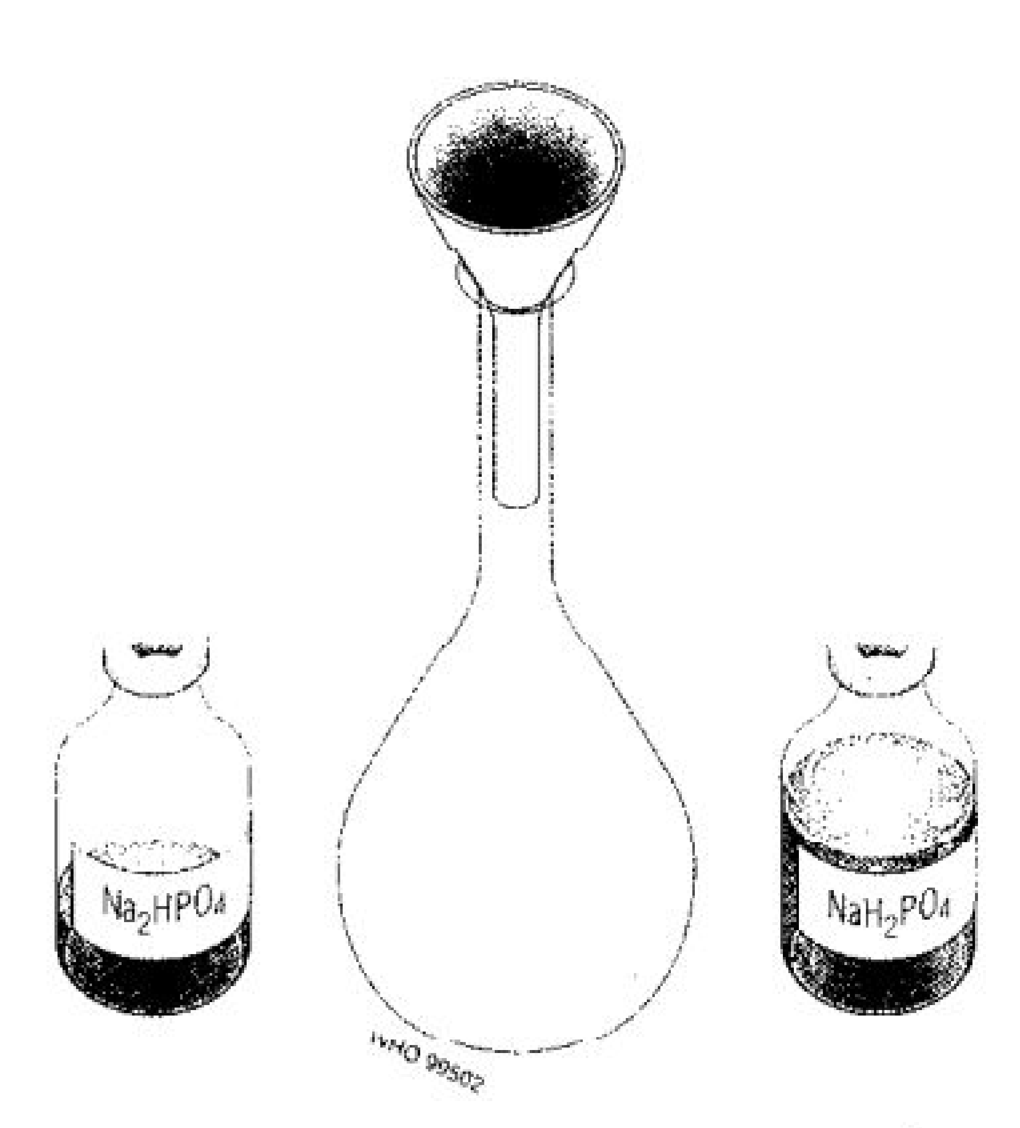
وأن يبقى متعادلاً؛ ويمكن التوَصُّل إلى ذلك، إن أمكن، بإذابة بعض الأملاح الدارئة في الماء (الماء المَدْرُوء).

المواد والكواشف

- اسطوانات مدرجة للقياس سعة 10 مل و 100 مل.
- حَوْجَلَة ذات قياسات (تدريجات) حجميّة سعة 1000 مل.
- الورق المشعر العام (لقياس الباهاء من 1 إلى 10).
- الورق المشعر ذو مجال الباهاء المحدود: 5.0 7.0– و 6.0–8.0.
- ماء مقطر (أو مزال المعادن).
- حمض الخل، محلول 5% (الكاشف رقم 1)، يحل بنسبة 1: 10 بالماء المقطر.
- فُسْفَات الهيدروجين الثنائية الصوديوم المُمَيَّهة ($Na_2HPO_4.2H_2O$).
- أحمر الفينول، محلول 1% (الكاشف رقم 42)
- فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4) اللامائية.
- كربونات الصوديوم، محلول 0.2% (الكاشف رقم 51).

الطريقة

1 – يوزن 3.76 غ من فُسْفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم بشكل مضبوط.
2 – تُنقل هذه الوزنة من المادة الكيميائية إلى حوجلة حجمية سعتها 1000 مل من خلال قمع (الشكل 36.2).
3 – يُشْطَف الوعاء الذي وُزِنَ فيه عدّة مرّات بالماء، وتُصَبّ الشُطَافة ضمن الحوجلة الحجمية ثم يُشْطَف القمع إلى داخل الحوجلة.
4 – يوزن بدقة 2.1 غ من فُسْفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين وتتبع الخطوتان الآنفتا الذكر 2 و 3.
5 – يضاف قليل من الماء ويمزج المحلول إلى أن تذوب المواد الكيميائية بتمامها.
6 – تُملأ الحوجلة حتى علامة 1000 مل بالماء.
7 – يُعاد وضع سدادة الحوجلة ويمزج المحلول جيداً.
8 – يُختزن المحلول في قارورة كواشف زجاجية بيضاء ويُحفظ في الثلاجة.



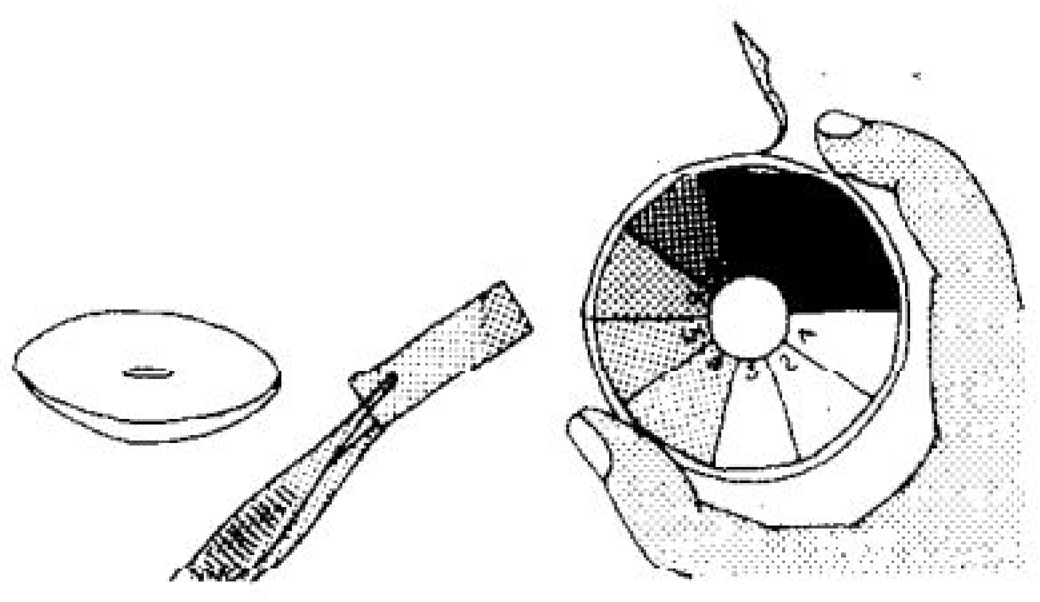
الشكل 36.2. نقل فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم إلى حوجلة ذات قياسات (تدريجات) حجمية.

9 – يغمس شريط من الورق المشعر العام في محلول الدارئة، وتتم مقارنة اللون الحاصل مع اللون في المخطط المعياري (الشكل 37.2) وتتم قراءة وحدة الباهاء العائدة إلى اللون الأكثر مطابقة لورق الاختبار.

10 – يمكن حسب النتائج الحاصلة اختيار مجال شريط الورق المشعر؛ فمثلاً في حال باهاء 6 يمكن استعمال ورق مجاله 5.0–7.0، وفي حال باهاء 7.5 يستعمل ورق مجاله 6.0–8.0.

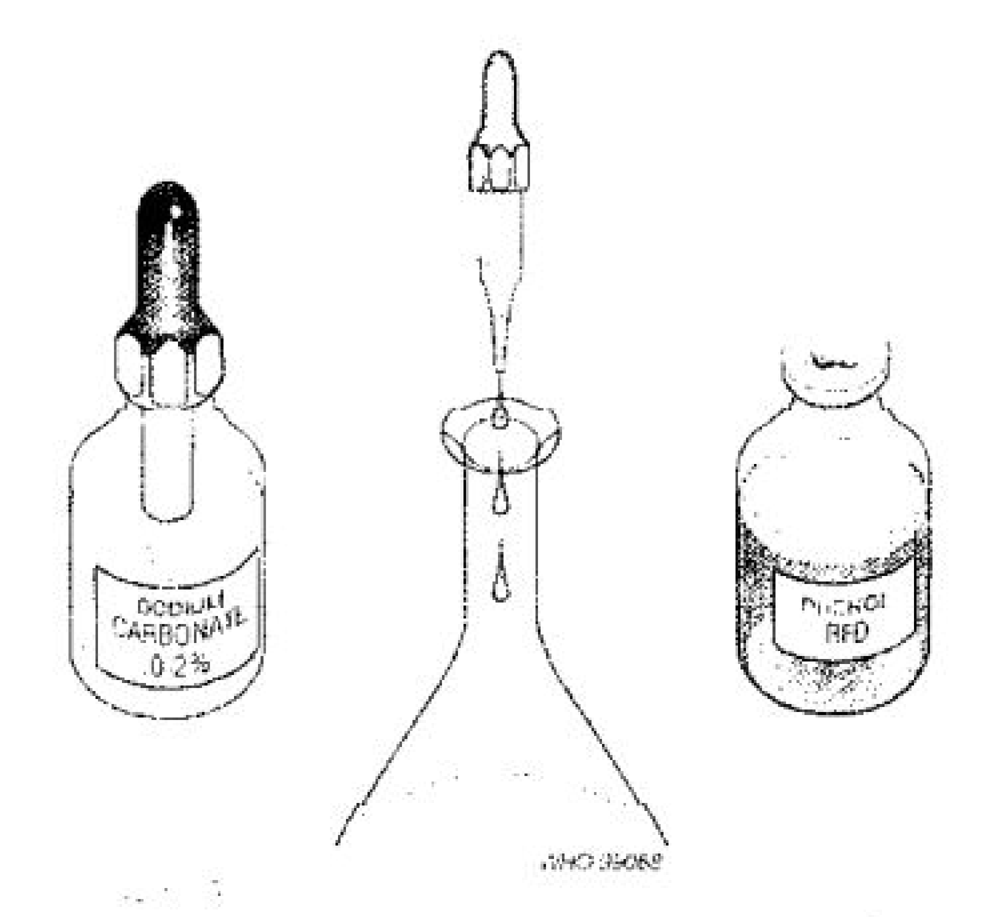
11 – يعاد الاختبار باستخدام ورق بمجال مناسب. تتم قراءة باهاء محلول الدارئة على المخطط المعياري.

12 – إذا كانت الباهاء بين 7.0 و 7.2 فالماء المدروء مقبول، وإذا كانت الباهاء تحت 7.0٪ فالماء حمضي. إذا كان الماء حمضياً يُعمل محلول جديد باستعمال الماء المقطر الذي غُلِيَ لمدة 10 دقائق في حوجلة مدوَّرة مكشوفة (لتخلصه من ثاني أكسيد الكربون).

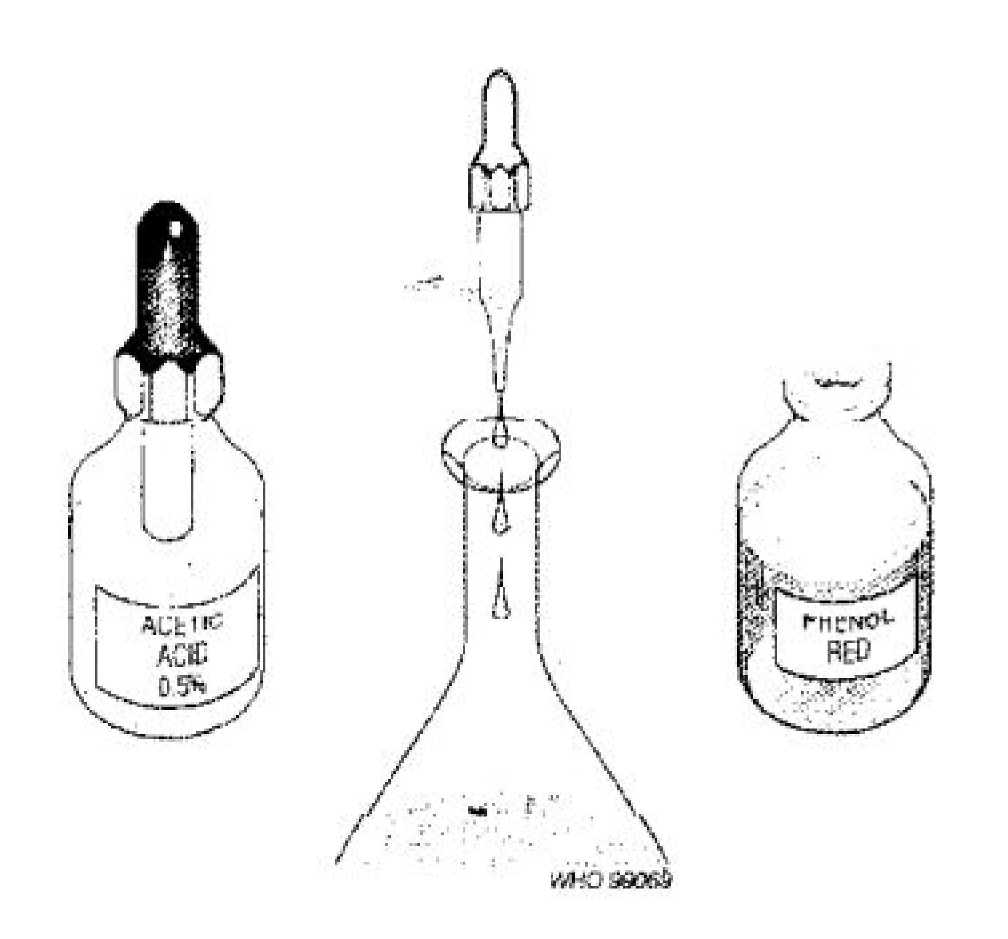

الشكل 37.2. تحري الباهاء باستخدام ورق مشعر عام.

13 – إذا كان الماء لا يزال حمضياً بعد الغلي:
- يضاف خمس قطرات من حمرة الفينول لكل لتر من الماء؛
- يُسْتَعْدَل الماء بإضافة محلول كربونات الصوديوم 2 غ/ل (0.2%) قطرة فقطرة، حتى ينقلب لون الماء إلى اللون الوردي (الشكل 38.2).

14 إذا كان الماء قلوياً (الباهاء فوق 7.2).
- تُضَاف خمس قطرات من أحمر الفينول لكل لتر من الماء؛
- يُستعدل الماء بإضافة محلول حمض الأسيتيك 5 غ/ل (0.5%) قطرة فقطرة، حتى ينقلب لون الماء إلى البرتقالي (الشكل 39.2).



الشكل 38.2. تصحيح باهاء الماء المدروء الحمضي



الشكل 39.2. تصحيح باهاء الماء المدروء القلوي

إذا لم يتوافر أي من فُسْفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم وفُسْفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين، فيستعدل الماء المقطر أو الماء المزال المعادن مباشرة كما سبق ذكره في الخطوات 12 إلى 14.

ملاحظة: يمكن أن تُصَحَّح الباهاء أيضاً بإضافة كميات قليلة من الأملاح الدارئة:

- يمكن استعمال فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم لزيادة الباهاء إذا كان الماء حمضياً (باهاء تحت 7.0).
- يمكن إضافة فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين لإنقاص الباهاء إذا كان الماء قلوياً (باهاء فوق 7.2).

5.2 المُعَدّات Equipment

فيما يلي قائمة بالأجهزة اللازمة لتجهيز مختبر قادر على إجراء جميع الفحوص الموصوفة في هذا الكتاب؛ ومثلُ هذا المختبر يقع عادة في مستشفى ريفي صغير (مستوى المنطقة) عدد أسِرَّته ما بين 60 و100 سرير.

1.5.2 أدوات المُخْتَبَر الأساسية

المجاهر[1]

يجب أن يجهز المخبر بمجهرين:

مجهر يجب أن يكون بأنبوب منحنٍ ذي عَيْنِيَّتَيْن، ورف ميكانيكي، وثلاث شَيْئِيَّات (10×، 40×، 100×)، وعينيتين (5×، 10×)، ومكثّفة، ومرآة مُستوية / مقعرة. وإذا توافر تيّار كهربائي رئيسي فيوصى بمصباح كهربائي للاستعمال في الدمويات.

مجهر ثانٍ للاستعمال في الإجراءات المختبرية الأخرى (كالطفيليات، وتحليل البول، والجرثوميات، الخ...)، ويجب أن يكون له أنبوب منحنٍ وحيد العينيّة، مع مُكَمّلاته كما وردت في البند السابق.

أما على مستوى المركز الصحي، فيكفي مجهرٌ وحيد العينية.

المَنابِذ[2]

من المفيد أن توجد منبذتان:

- مِنبَذة كهربائية ذات وصلة رأس للمكروهيماتوكريت (تُدْعَى هذه المنبذة بالمِكْداس الصِّغْري) ومِقْراء.
- مِنْبَذة يدوية أو كهربائية ذات أربع دِلاء.

الميزان[3]

يلزم ميزان تحليلي مع مجموعة من الأوزان إذا كانت الكواشف ستُحضَّر في المختبر نفسه.

الثلاجة

يجب أن تُحْفَظ الكواشف (كاللازمة لاختبار VDRL واختبارات الحمل، الخ...) والمواد (كبعض مستنبتات النقل، النماذج، الخ..) في الثلاجة.

الحمام المائي

من الضروري وجود حمام مائي مجهز بناظم للحرارة للتحكم بالحرارة عندما تدعو الحاجة إلى حفظ العينات أو المواد بحرارة معينة وعند وجوب إجراء القياسات بحرارة ما.

عَدَّاد (مِعْداد) تفريقي

مع أنه يمكن استعمال العَدَّاد اليدوي، فإن العَدَّاد التفريقيّ يوفر الوقت.

المقياس الضوئي أو المقياس اللوني

من الضروري وجود مقياس ضوئي أو مقياس لوني لاختبارات كيمياء الدم ولتعيين مستويات الهيموغلوبين بشكل مضبوط. وهنالك نماذج تعمل بالبطارية متوافرة تجارياً.

---

[1]: للمزيد من المعلومات انظر الفقرة 1.3.

[2]: للمزيد من المعلومات انظر الفقرة 3.3.

[3]: للمزيد من المعلومات انظر الفقرة 3.2.3.

2.5.2 بنود إضافية

المُوْصَدَة

إذا كان المختبر في مستشفى، فيمكن استعمال خدمة تعقيم المستشفى. أما إذا كان المختبر في مركز صحي فيلزم (الفقرة 5.5.3):

- إما مُوْصَدَة صغيرة (كهربائية أو مُسَخِّنَة بموقد زيت الكاز أو بغاز البوتان).
- وإما طنجرة بخار (طنجرة ضغط).

فرن الهواء الساخن

إذا كان المختبر كبيراً بشكل كاف، يفيد وجود فرن صغير للهواء الساخن لتجفيف الزجاجيات والتعقيم، بالإضافة إلى الموصدة (الفقرة 5.5.3).

جهاز مُزيل الأيونات (الشوارد) أو جهاز تقطير الماء

مزيلُ الأيونات هو جهازٌ لإزالة المعادن من الماء بواسطة خراطيش مملوءة بالراتين المُبادِل للأيونات (الفقرة 3.4.2).

ويمكن أن يُستعمل جهاز تقطير بدلاً من مُزيل الأيونات إذا لم يكن الأخير متوافراً.

3.5.2 المعدات والتجهيزات (الإمدادات) Equipment and Supplies

ذُكرت في الجدول 2.2 قائمة بالمعدات والإمدادات (التجهيزات) التي يستهلكها المختبر. والكميات المقترحة كافية لتمكين مختبر فيه واحد أو أكثر من التقنيين من إجراء 20–50 فحصاً في اليوم لمدة 6 أشهر. وتبدو الزجاجيات والمعدات الصغيرة المستعملة في المختبر في الشكل 40.2.

4.5.2 إعداد المعدات الزجاجية

يُصنع الزجاج بصهر مزيج من الرمل والبوتاس(أو الصود) في درجات عالية من الحرارة ويعطي ذلك أشكالاً من السيليكات (زجاج جير الصودا soda – lime العادي)، وأحياناً يضاف حمض البوريك إلى هذه المُكوِّنات مما يُنتج زجاج البوروسيليكات الذي هو أقل هشاشة وأكثر مقاومة للحرارة من الزجاج العادي. ويمكن عمل بعض أنواع المعدات الزجاجية في المختبر الطبي وذلك بتسخين الزجاج العادي.

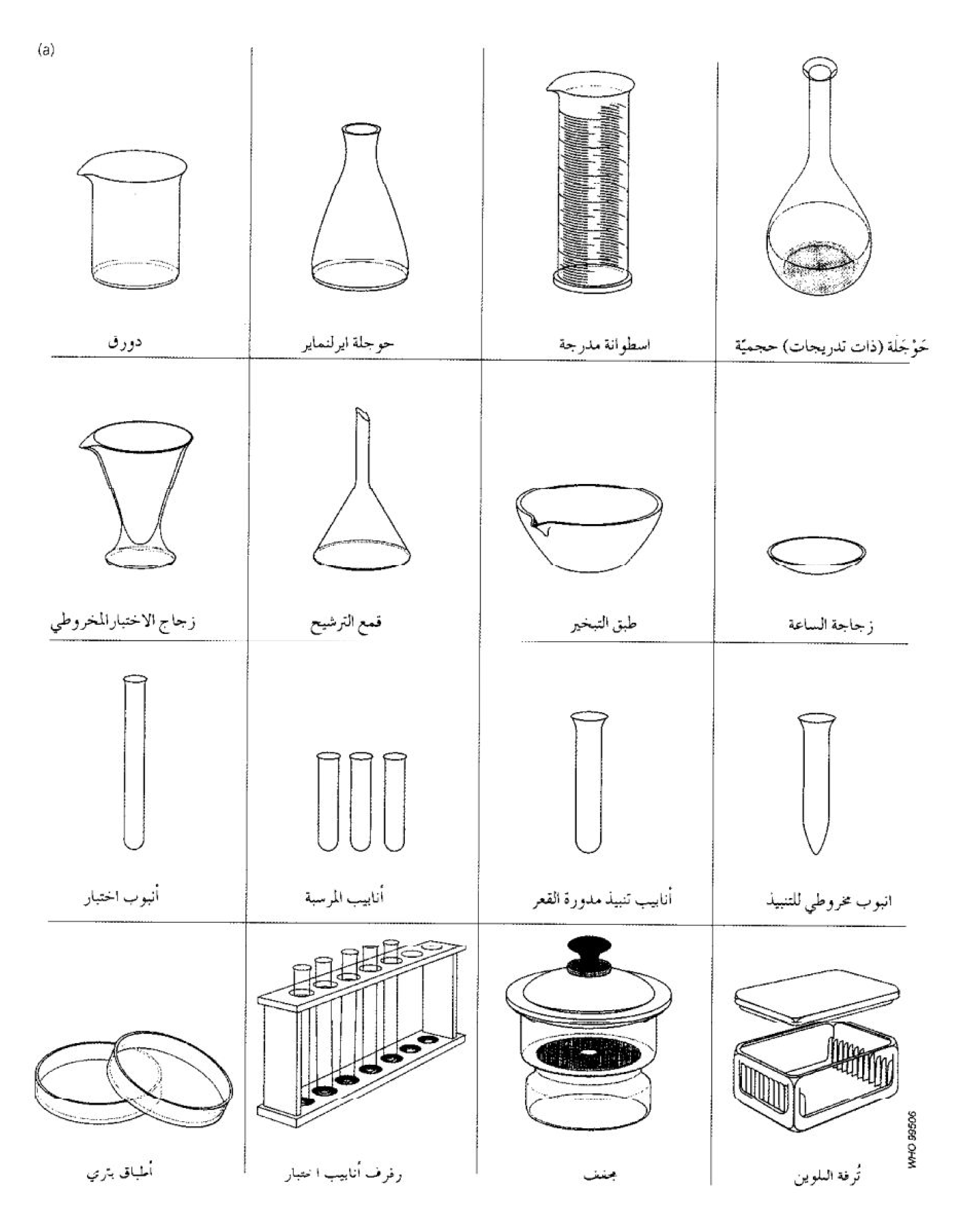
المواد

- أنبوب زجاجي مجوف بقطر خارجي 4 – 8 مم وثخانة للجدار 0.9– 1.0 مم.
- قضبان زجاجية بقطر 4 – 8 مم.
- مِبْرد (منشار) file، أو قاطع للزجاج، أو قلم ماسي.
- قماش.
- مِلْهَب بنزن (أو حِمْلاج blowlamp بترولي أو غازي صغير).

عمل ممص باستور

1. يُؤخذ أنبوب زجاجي بقطر 4–6 مم، وتُعَلَّم الأطوال المطلوبة من الأنبوب بالمنشار:
   - 14–15 سم للممصات الصغيرة؛
   - 18–25 سم للممصات الكبيرة.

تُحَكّ كل علامة حوالي الأنبوب لتشكيل دائرة كاملة (الشكل 41.2).



الشكل 10.2. الأواني الزجاجية والتجهيزات المستخدمة في المختبر.


(b)
شاش من الأميانت ومنصب ثلاثي الأرجل
ملهب ميكر
مصباح كحولي
ملهب بنزين
مدقة وهاون
ملقط شرائح
حامل أنبوب اختبار خشبي
بصلة أمان مطاطية
مقياس حرارة
قارورة غسل (نضّاحة)
قارورة تقطير
مؤقت
WHO 98507

الجدول 2.2 المعدات والإمدادات اللازمة للمختبر الصحي المحيطي.

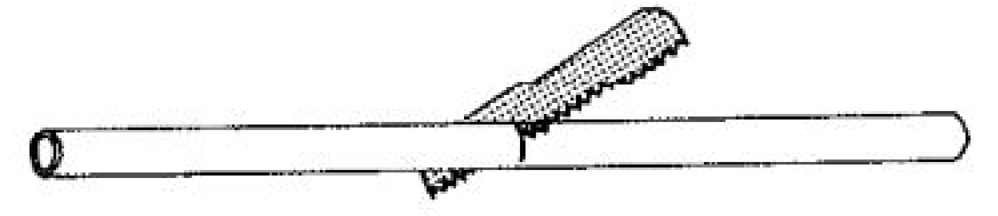
البند	الكمية اللازمة
معدات لجمع النماذج	
معدات أساسية	
محاقن مُدَرَّجة وحيدة الاستعمال (نبوذة) سعة 20 مل	حسب اللزوم
محاقن مُدَرَّجة وحيدة الاستعمال (نبوذة) سعة 10 مل	حسب اللزوم
محاقن مُدَرَّجة وحيدة الاستعمال (نبوذة) سعة 5 مل	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال، مَقَاس (عيار) 18 (1.2 م) ×40م	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال ، مَقَاس (عيار) 19 (1.0–1.1 م) ×40م	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال ، مَقَاس (عيار) 20 (0.9 م) ×40م	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال ، مَقَاس (عيار) 22 (0.7 م) ×40م	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال ، مَقَاس (عيار) 23 (0.6 م) ×32م	حسب اللزوم
إبر وحيدة الاستعمال ، مَقَاس (عيار) 23 (0.6 م) ×90م	حسب اللزوم
أنبوب مطاطي للعواصب بقطر داخلي 2–5م	قطعتان
واخزات لأخذ الدم الشُعيري	حسب اللزوم
قطن أبيض ماصّ	2×500 غ
قطن غير ماصّ	2×500 غ
قوارير كانت تحتوي على مضادات حيوية، كواشف، الخ... للحقن (سعة 20،10،5مل)	أكثر ما يمكن
معدات إضافية	
مشْرَط ذو شفرات وحيدة الاستعمال لأخذ نماذج لطاخة الجلد الفَلْعيّة (للجُذام)	1
مَلْقَط ملقاطي منحنٍ دون أسنان لأخذ نماذج لطاخة الجلد الفَلْعيّة (للجُذام)	1
عُلَبٌ من البلاستيك أو المقوى، وحيدة الاستعمال، لجمع البراز	50
عيدان خشبية(12سم×1م) (يمكن تحضيرها محلياً)	50
قوارير بسعة 2.5مل و 5مل والأفضل من البلاستيك	50
قوارير من الزجاج الأبيض واسعة الفوهة سَعَتُها 50 مل مع غطاء معدني مُلَوْلَب وفَلْكة مطاطية لأخذ البلغم أو القشع	25
قوارير زجاجية بيضاء سعة 25 مل مع غطاء معدني ملولب وفلكة مطاطية لمختلف النماذج	25
قوارير واسعة الفتحة، من مختلف الحجوم، لجمع نماذج البول	20–40
ملقط خارم للخزعات الجلدية (لداء كلابية الذنب)	1
خوافض لسان خشبية	50
الزجاجيات	
بنود أساسية	
قضبان زجاجية مصمتة قطرها 6 م	3
دوارق مسطحة من البلاستيك سعة 50مل	4
دوارق مسطحة من البلاستيك سعة 100مل	4
دوارق مسطحة من البلاستيك سعة 250مل	4
تُرَفٌ مستطيلة للتلوين تَسَعُ 20 شريحة	4
قمع زجاجي قطره 60م	1
قمع زجاجي قطره 90م	2
قمع من البلاستيك قطره 200م	1
اسطوانات مدرجة زجاجية، 25مل	3
اسطوانات مدرجة زجاجية، 50مل	3
اسطوانات مدرجة زجاجية، 100مل	3
اسطوانات مدرجة زجاجية، 250مل	2
اسطوانات مدرجة زجاجية، 500مل	1
اسطوانات مدرجة زجاجية، 1000مل	1
حواجل إيرلنماير مقاومة للحرارة واسعة الفوهة سعتها 250مل	3

البند	الكمية اللازمة
حواجل إيرلنماير مقاومة للحرارة واسعة الفوهة سعتها 500مل	3
حواجل إيرلنماير مقاومة للحرارة واسعة الفوهة سعتها 1000مل	3
قوارير قطارة من البلاستيك أو الزجاج سعتها 100مل	12
قوارير قطارة من الزجاج البني سعتها 100مل	3
قوارير للكواشف من البلاستيك أو الزجاج، 100مل	20
قوارير للكواشف من البلاستيك أو الزجاج، 500مل	10
قوارير للكواشف من البلاستيك أو الزجاج، 1000مل	10
قوارير حجمية من الزجاج ذات سدادات، 100مل	4
قوارير حجمية من الزجاج ذات سدادات، 250مل	2
قوارير حجمية من الزجاج ذات سدادات، 500مل	2
قوارير حجمية من الزجاج ذات سدادات، 1000مل	1
شرائح مجهرية 25×75م (1.1 إلى 1.3م)	1000×2
سواتر مربعة 20×20م (0.13 إلى 0.16م)	100×20
قوارير غاسلة (نَضَّاحات) من البلاستيك سعة 500مل	2
قوارير غاسلة من البلاستيك سعة 1000مل	2
زجاجات ساعة قطرها 50م	2
ممصات مدرجة من الأعلى (ولا تصل إلى الذروة)، 1مل (مقسمة بتقسيمات 0.01مل)	12
ممصات مدرجة من الأعلى (ولا تصل إلى الذروة)، 2مل (مقسمة بتقسيمات 0.02مل)	10
ممصات مدرجة من الأعلى (ولا تصل إلى الذروة)، 5مل (مقسمة بتقسيمات 0.05مل)	10
ممصات مدرجة من الأعلى (ولا تصل إلى الذروة)، 10مل (مقسمة بتقسيمات 0.10مل)	6
ممصات باستور	144×2
أنابيب اختبار مقاومة للحرارة، 150×16م	50
أنابيب اختبار مقاومة للحرارة، 85×15م (أنابيب كان)	100
أنابيب اختبار مقاومة للحرارة، 50×6م (أنابيب اختبار التوافق)	20
أنبوب تَنبيذ مخروطي سعته 15م	40
أنبوب تَنبيذ مخروطي سعته 15م مدرج بتدريجات 0.1م	50
أنبوب زجاجيّ جداره 1.0–1.5م قطره 7–8م	1 كغ
بنود إضافية	
أطباق بتري زجاجية بقطر 112م	4
أطباق بتري زجاجية بقطر 156م	4
أطباق للتبخير، 75م(75مل)	2
مُجَفِّفة desiccator	1
معدات لاختبارات الدمويات	
مَمَصّات ساهلي 0.02 مل مع أنبوب مطاطي	30
مَمَصّات دموية 0.05مل	20
حُجَيْرات عَدّ نوباور المُحَسَّنَة (بخطوط لامعة إذا أمكن)	3
حُجَيْرات عَدّ فوكس روزنتال	1
ساترات مستوية بصرياً لحُجَيْرات العَدّ	12
عَدَّاد	1
أنابيب وسترغرين لتعيين سرعة تثفل الكريات الحمر	30
حوامل لأنابيب وسترغرين	2
أنابيب شعرية بالهيبارين للمكروهيماتوكريت	1000
منبذة للمكروهيماتوكريت	1
شمع لختم أنابيب المكروهيماتوكريت	1 لفافة
معدات للاختبارات الباكتريولوجية (الجرثومية) والكيميائية الحيوية	
سلك من خليطة النيكل والكروم (نيكروم) بقطر 1م	1م

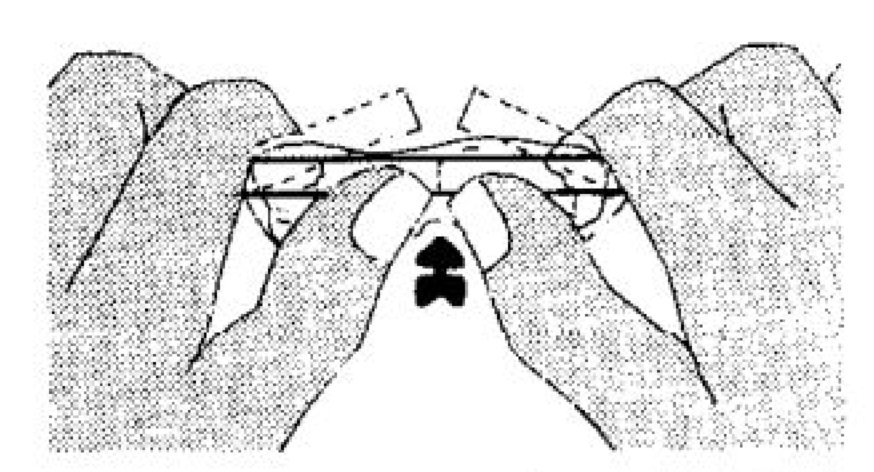
تتمة الجدول 2.2

البند	الكمية اللازمة
حَوامل للغانات (والغانات هي عرى حمل العينات)	4
كتلة خشبية لحوامل الغانات	1
أنابيب معيارية للبروتين	1 مجموعة
حوامل لأنابيب الاختبار، كبيرة، لـ 12 أنبوباً	4
حوامل لأنابيب الاختبار، صغيرة، لـ 12 أنبوباً	4
حوامل خشبية لأنابيب الاختبار	2
ملقط من الفولاذ المقاوم للصدأ للشرائح	2
ملهب بنزن لاستعماله مع غاز البوتان	1
أسطوانة غاز البوتان	حسب اللزوم
مَنْصَب مع شبكة من الأسْبَسْت (الأمْيانت)	1
ملْوَق بحجوم مختلفة لوزن الكواشف	3
سجلات وتقارير المختبر	
دفاتر سجلات مُجَلَّدة كبيرة	6
أقلام شمعية للكتابة على الزجاج، حمراء	12
أقلام شمعية للكتابة على الزجاج، زرقاء	12
قلم ماسيّ للكتابة على الزجاج	1
أقلام رصاص	12
أقلام حبر ناشف (أو عادي) حمراء (من أجل النماذج الإيجابية)	2
أقلام حبر ناشف (أو عادي) سوداء أو زرقاء	3
شريط من السيلُوفان	3 كَرَّارات
شريط لاصق أبيض	3 كرارات
لُصاقات من أجل قوارير النماذج	1000
استمارات لطلب الفحوص المختبرية (والأفضل أن تكون موحدة مركزياً)	حسب اللزوم
معدات متفرقة	
مجاهر	2
مقياس تلوين	1
حمام مائي	1
ثلاجة	1
فرن هواء ساخن	1
منبذة	1
ميزان	2
نازع شوارد أو جهاز تقطير	1
ميقاتيّات 0–60 دقيقة مع مُنَبِّه	1
مِصباح كحولي	1
مِطْرَقَة	1
زَرَّادَة	1
زرادة للأعمال الكهربائية	1
مِفَكّ صغير	1
مِفك متوسط	1
مفك كبير	1
مِبْرَد معدني مدور، 5مم	1
مِبرد صغير للأمبولات	12
مِغْلاة مسطحة القاع مع غطاء، 30 سم	1
صَفيحة مُسَخِّنَة	1
مدقة وهاون (قطر 10سم)	1
أحواض من البلاستيك، 50×30 سم	3
سَطْل من البلاستيك، 12 ل	1

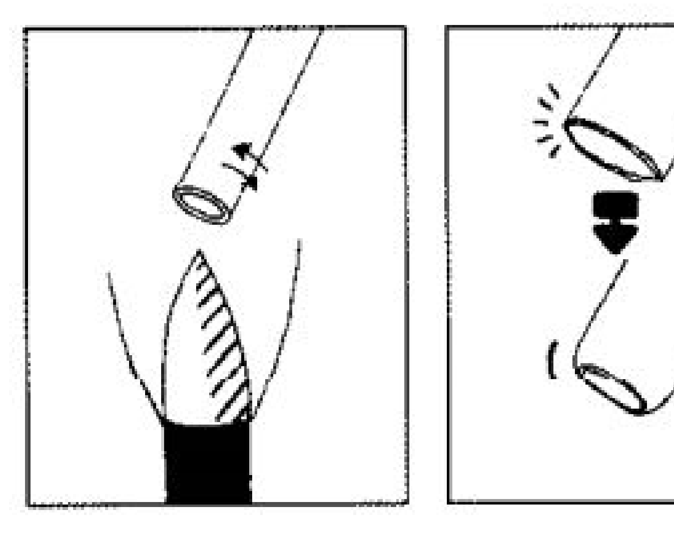
البند	الكمية اللازمة
بصلات مطاطية للسلامة (لتنظيف الممصات)	1
بصلة أمان مطاطية	4
ممص مكروي، 20 مكل	1
ممص مكروي، 50 مكل	1
ممص مكروي، 100 مكل	1
ممص مكروي، 200 مكل	1
ممص مكروي، 500 مكل	1
ذرى مستدقة tips للممص المكروي وحيدة الاستعمال من البلاستيك، 20مكل	حسب اللزوم
ذرى مستدقة tips للممص المكروي وحيدة الاستعمال من البلاستيك، 50مكل	حسب اللزوم
ذرى مستدقة tips للممص المكروي وحيدة الاستعمال من البلاستيك، 100مكل	حسب اللزوم
ذرى مستدقة tips للممص المكروي وحيدة الاستعمال من البلاستيك، 200مكل	حسب اللزوم
ذرى مستدقة tips للممص المكروي وحيدة الاستعمال من البلاستيك، 500مكل	حسب اللزوم
مقصات متوسطة	1
مقصات كبيرة	1
مُخَلِّيَة معدنية	1
مقياس حرارة، 0–100 س	1
سدادات من المطاط	1 مجموعة
سدادات من الفلّين	1 مجموعة
نازِعَة السدادات الفلينية	1
فراشي لتنظيف أنابيب الاختبار والقوارير (حجوم مختلفة)	6
ورق ترشيح 15 سم (رقم 1 واتمان أو ما يكافئه)	4 عُلَب
ورق باهاء pH ، مجال ضيق (6.8–7.2)	6 عُلَب
ورق باهاء pH ، مجال عريض (0–12)	6 عُلَب
ورق عدسات	رُزْمتان
فرشاة دقيقة من شعر جمل ناعم (لتنظيف العدسات)	1
بصلة مطاطية صغيرة (لتنظيف العدسات)	1
مناديل ورقيه	2 كرّاران
مناشف وخِرَق تنظيف	حسب اللزوم
زيت الغَطْس	6 قوارير (x 10مل)



الشكل 41.2. تحديد الطول المطلوب من الأنبوب الزجاجي باستعمال منشار.



الشكل 42.2. كسر الأنبوب الزجاجي باليدين.

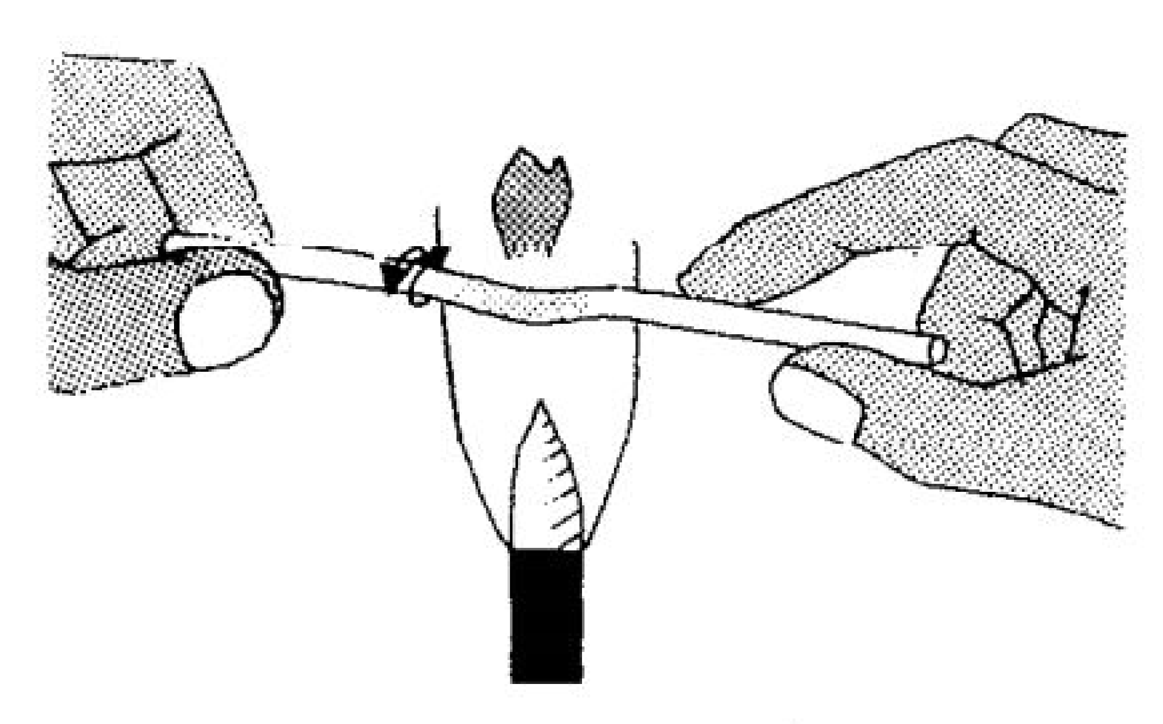




الشكل 43.2. تدوير نهايات الأنبوب الزجاجي باللهب.

يُلَفّ الجزء المراد كسره بالقماش أو المناديل الورقية، ثم يُمسك بكلا اليدين على أن يكون كل إبهام على أحد جانبي العلامة المحكوكة (الشكل 42.2)، ويُكسر الأنبوب بكلا الإبهامين.

3. تشذب حواف نهاية كل من قطعتي الأنبوب كما يبدو في الشكل 43.2:


الشكل 44.2. تسخين أنبوب الزجاج قبل سحب الممص.

– تُسَخَّن النهاية بحمل الأنبوب في وضع يكاد يكون عمودياً مباشرةً فوق اللهب الأزرق للمِلْهَب؛

يُبْرَم الأنبوب ويثابر على برمه ببطء؛

– يُوْقَف ذلك عندما يصبح الزجاج ساخناً جداً لدرجة الاحمرار.

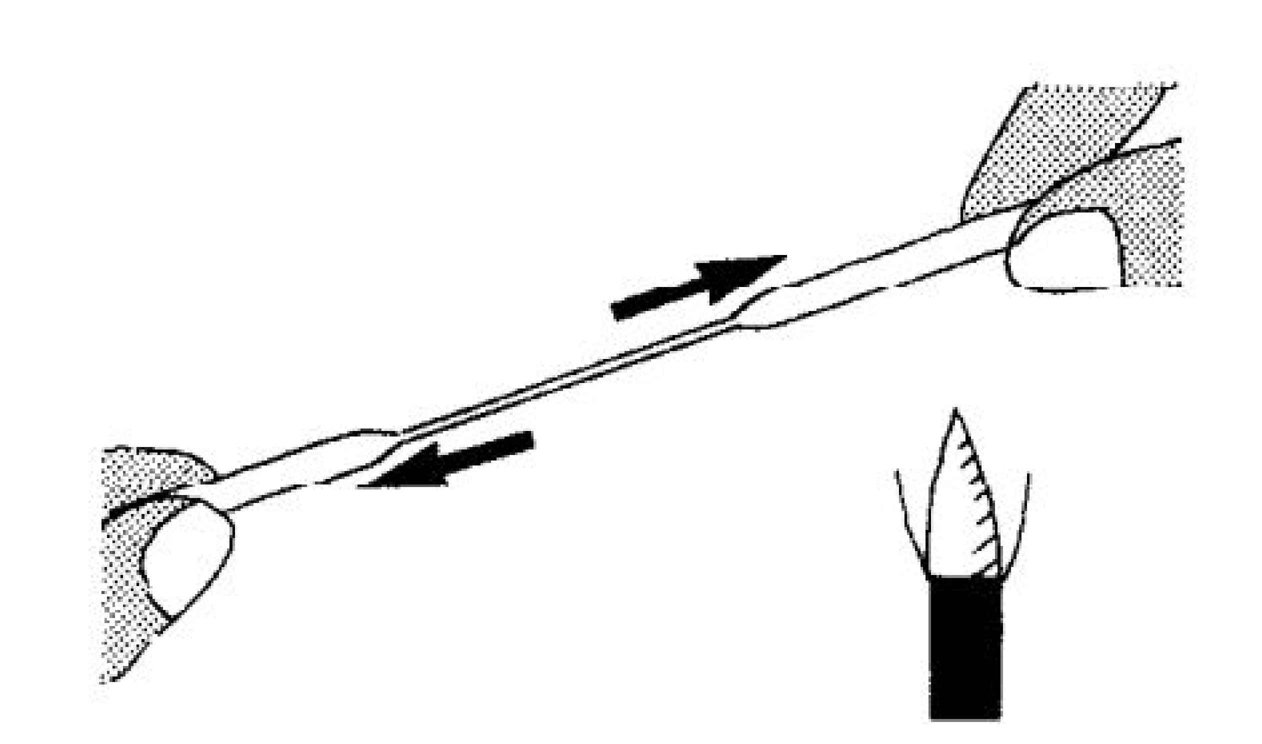
4. تُوْضَع الأنابيب قائمة في دورق أو علبة من الصفيح ونهاياتها التي سُخِّنَت إلى الأعلى وتترك لتبرد.

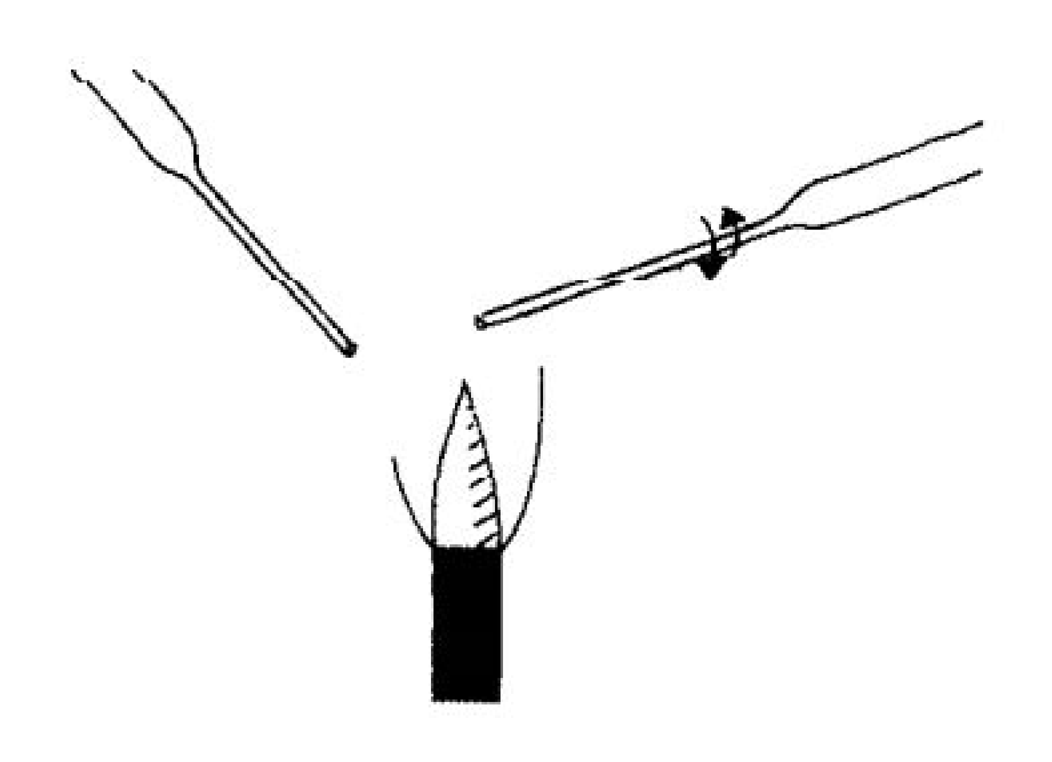
تُغسل كل قطع الأنابيب المُحَضَّرَة (طبقاً للتعليمات المعطاة في الفقرة 1.5.3)، ثم تُشْطَف وتُجَفَّف.

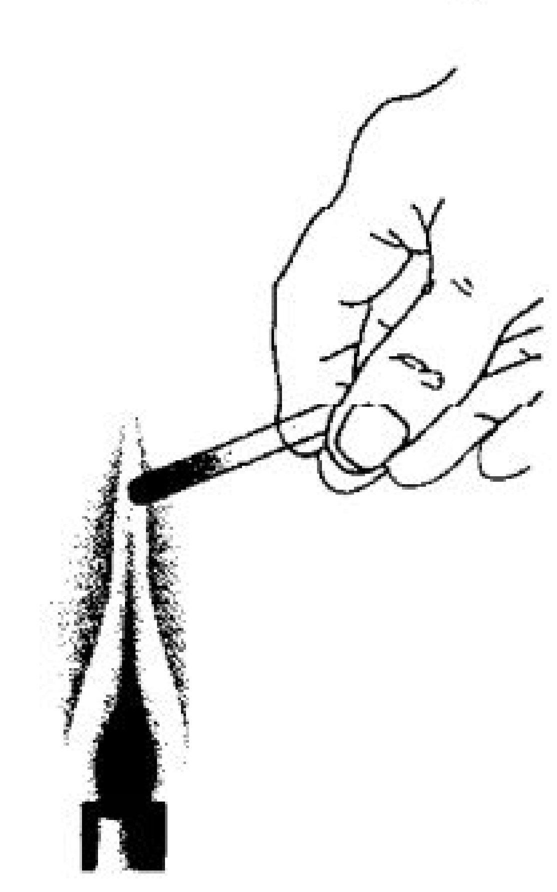
5. يتم سحب الممص على الوجه التالي:

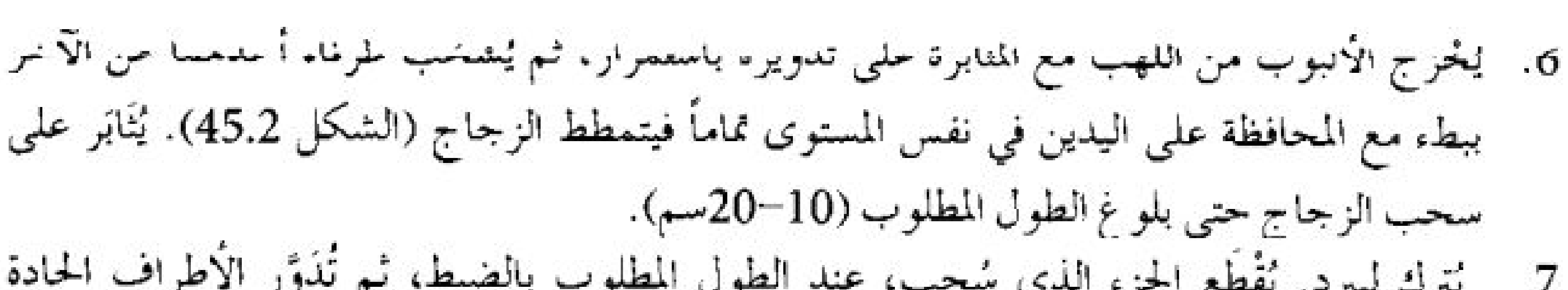
– يُسَخَّن القسم المتوسط من طول الأنبوب على لهب أزرق (الشكل 46.2)؛

– يُثابَر على تدوير الأنبوب إلى أن يَحْمَر الزجاج، حيث ينقلب لون اللهب إلى الأصفر عندئذٍ.


الشكل 45.2. سحب الممص.


الشكل 46.2. تشذيب نهايات الممصات بالتلهيب.


الشكل 47.2. تدوير نهايات القضبان الزجاجية بالتلهيب.



6. يخرج الأنبوب من اللهب مع المثابرة على تدويره باستمرار، ثم يُسحب طرفاه أحدهما عن الآخر ببطء مع المحافظة على اليدين في نفس المستوى تماماً فيتمطط الزجاج (الشكل 45.2). يُثابَر على سحب الزجاج حتى بلوغ الطول المطلوب (10–20سم).

7. يُترك ليبرد. يُقْطَع الجزء الذي سُحِب، عند الطول المطلوب بالضبط، ثم تُدَوَّر الأطراف الحادة بإمساكها عدة ثوان في اللهب (الشكل 46.2). أو بدلاً من ذلك يمكن فصل الممصين ولحمهما بتسخين الجزء المسحوب من وسطه في اللهب.



عمل قضبان التحريك

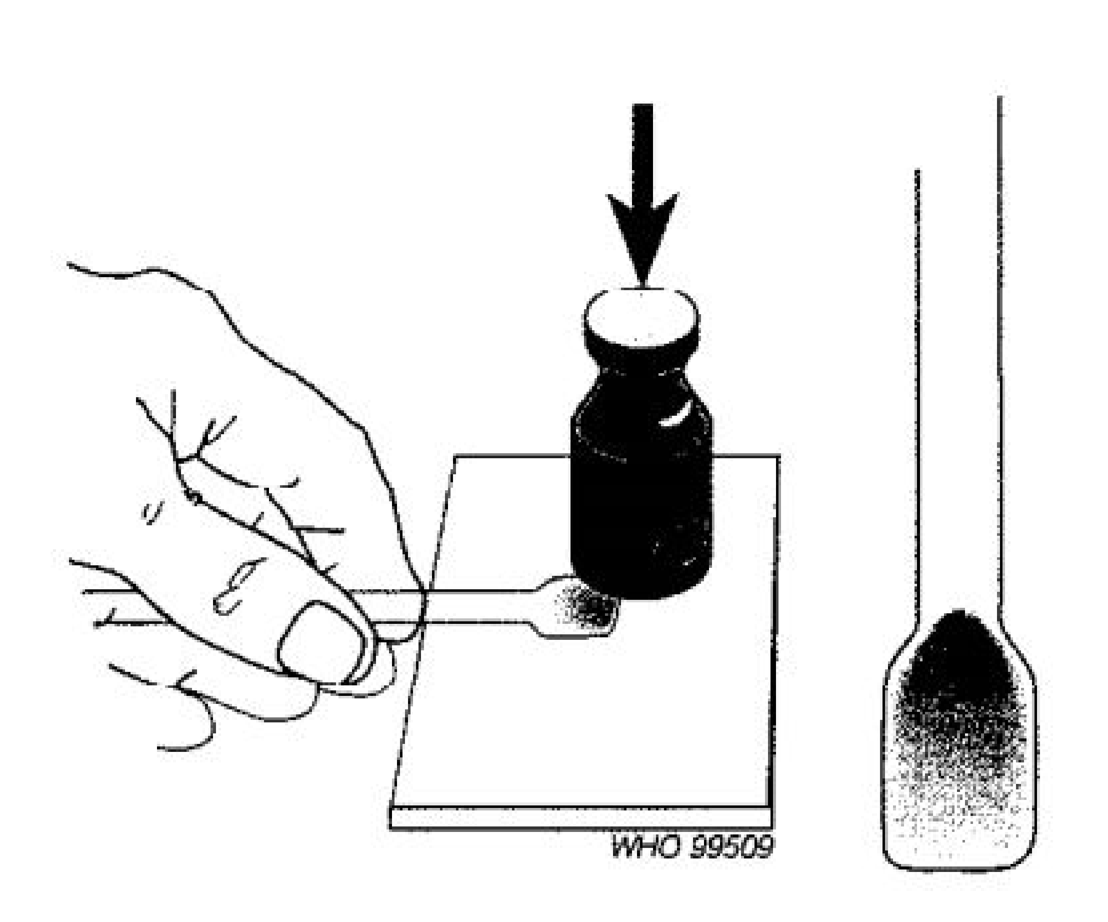
1. يستعمل قضيب زجاجي مُصْمَت (غير مجوف) قطره حوالي 5م. يُقطَع القضيب بأطوال 15 أو 20 أو 25سم تبعاً للاحتياجات باستعمال منشار الزجاج (الشكل 41.2).

2. تُشذب نهايتا القضيب بتدويرهما فوق اللهب الأزرق للملهب إلى أن يصبح حوالي 1 سم من القضيب الزجاجي أحمر ساطعاً (الشكل 47.2).

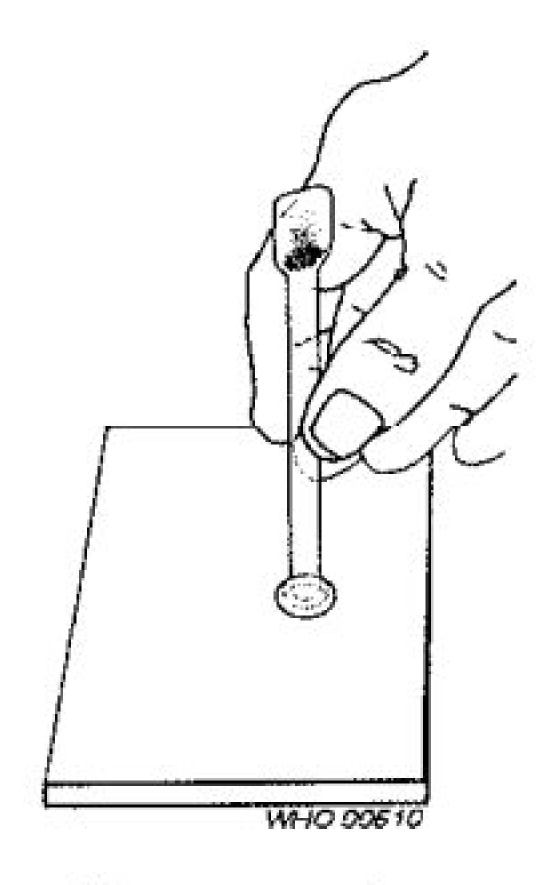
3. يَبَسط أو يُسطَّح الطرف المسخن بضغطه على سطح منضدة العمل المُبَلَّط (الجاف) بوزن مقداره 500 غ أو 1 كغ (الشكل 48.2).

4. تُسَخَّن النهاية الأخرى وتضغط بلطف إلى الأسفل على السطح المُبَلَّط (الشكل 49.2).

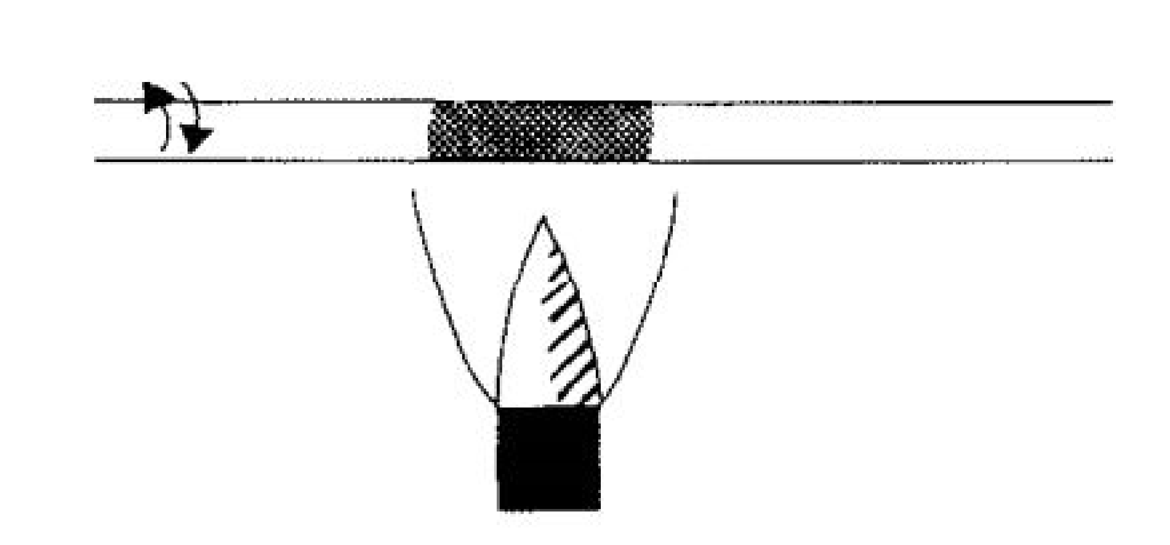
يُمكن أن تُستعمل القضبان الزجاجية لإبانة السوائل أو صبها ببطء (الشكل 52.3).



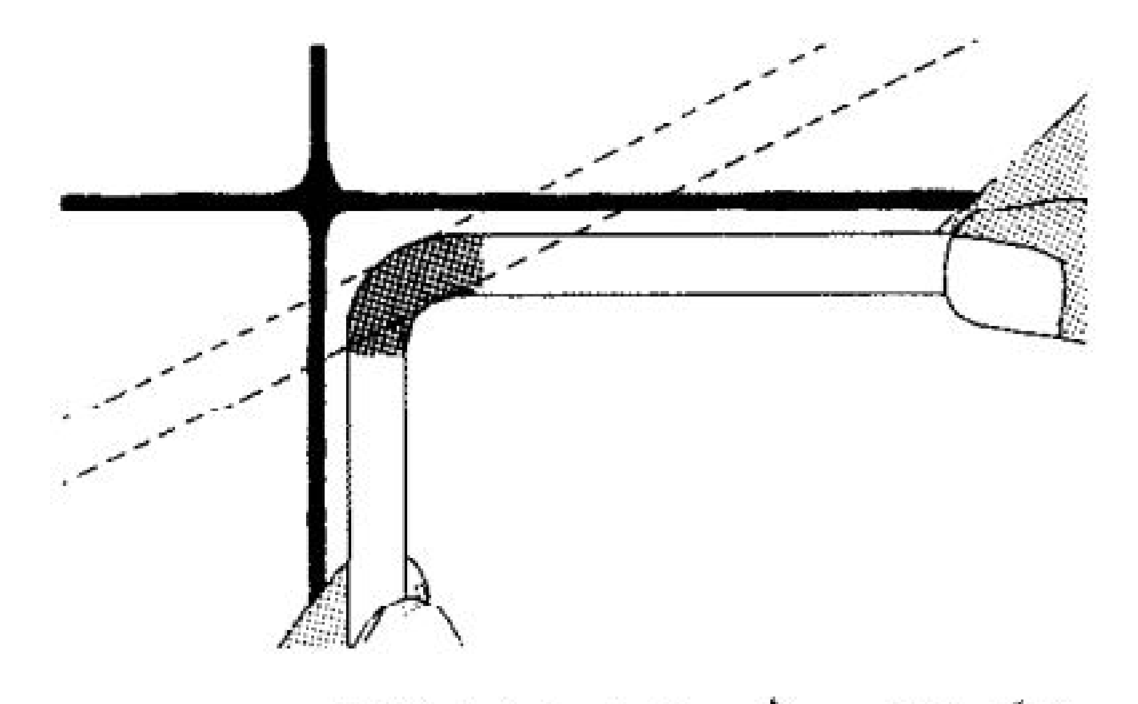
الشكل 48.2. تسطيح النهاية المُسخّنة باستعمال وزن.



الشكل 49.2. ضغط النهاية المُسخّنة للعود الزجاجي إلى الأسفل على السطح المُبلّط.



الشكل 50.2. تسخين الأنبوب الزجاجي قبل الحني.



الشكل 51.2. حني الأنبوب الزجاجي لعمل زاوية قائمة.

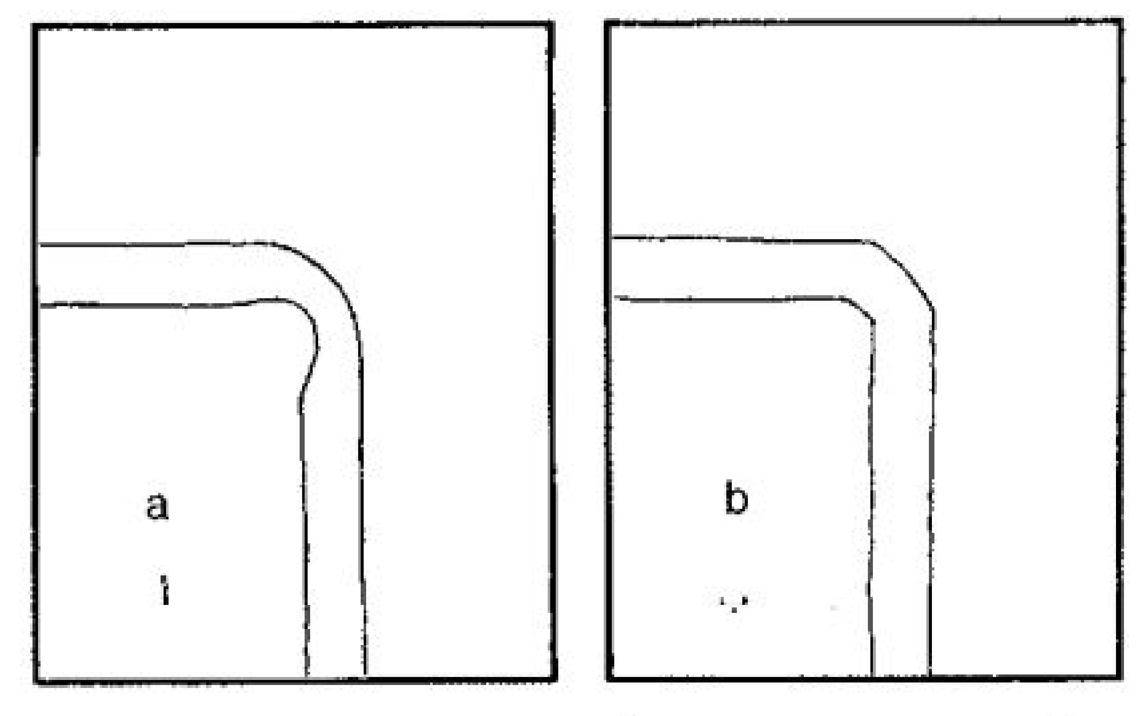
حني الأنابيب الزجاجية

1. تُسخّن المنطقة التي يُراد حَنْيُها بتدوير الأنبوب فوق اللهب إلى أن ينقلب الزجاج إلى لون أحمر شاحب (الشكل 50.2) ويلين.
2. يُحْنَى ببطء لعمل زاوية قائمة (وذلك بمحاذاة زاوية بلاطة؛ انظر الشكل 51.2).

الحَنيات السيئة (الشكل 52.2)

يمكن أن تنتج الحنيات السيئة إذا :

- كان الزجاج حاراً جداً (أ).
- لم تكن حرارة الزجاج كافية (ب).



الشكل 52.2. مشاكل شائعة بحني الأنابيب الزجاجية.

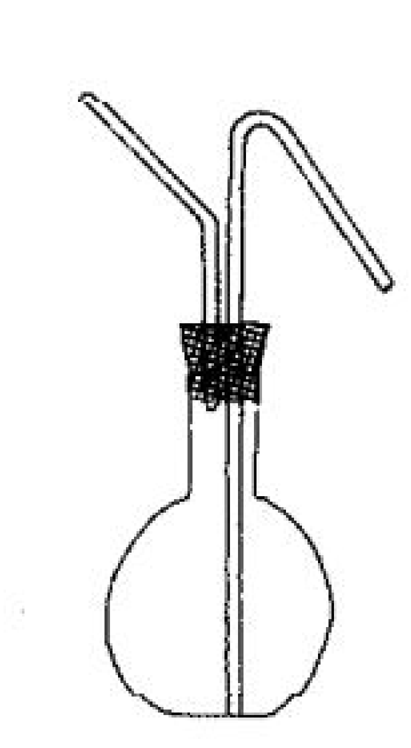
عمل النَّضّاحَة (قارورة الغسل)

المواد

- قارورة مدورة.
- قطعتان من أنبوب زجاجي.
- فلينة أو سِدادة من المطاط.

الطريقة

تُثْقب السدادة بثاقب الفلين، وتُرَطَّب نهايتا الأنبوبين بقطرات من الماء (للفلين) أو الغليسيرول (للمطاط) قبل إدخال الأنبوبين في ثقبيهما (الشكل 53.2)، مع وقاية اليدين بقطعة من القماش.



الشكل 53.2. مكونات النضاحة.

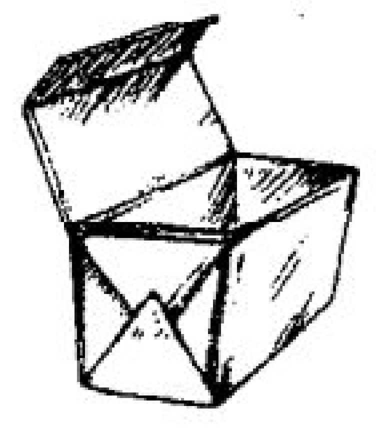
5.5.2 أواني النماذج

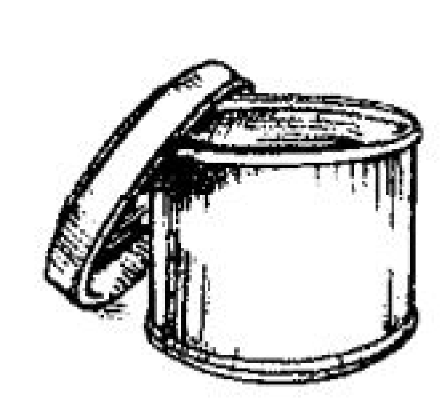
تستعمل أنماط مختلفة من الأواني من أجل جمع النماذج كالبراز والدم والبول والبلغم أوالقشع في المختبر.

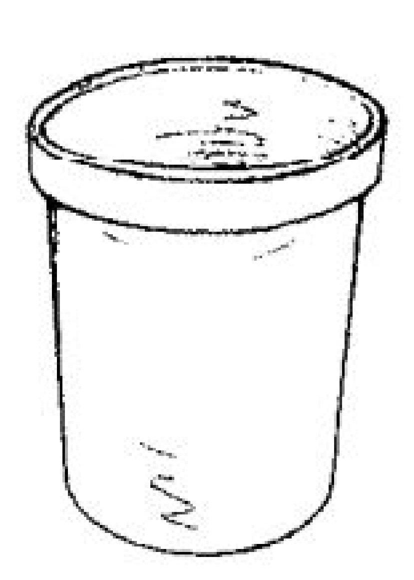
أواني نماذج البراز

الأنماط التالية للأواني ملائمة لجمع نماذج البراز (الشكل 54.2):

- علبة من الورق المُقَوَّى المُشَمَّع.
- علبة فارغة من الصفيح ذات غطاء.
- علبة خفيفة من البلاستيك.
- حنجور زجاجي مصمم خصوصاً لأخذ البراز، مع ملعقة مغروسة في سدادته.







الشكل 54.2. أواني لجمع نماذج البراز.

القوارير وأنابيب الاختبار لأخذ نماذج الدم

دون مضاد تخثر

أفضل نمط من أنابيب الاختبار للاستعمال هو ذلك الذي يمكن تنبيذه، لأن ذلك يجنب كثرة العمل اليدوي على النموذج.

- تستعمل أنابيب اختبار جافة نظيفة بسعة 5 إلى 20 مل بحسب الاحتياجات.

مع مضاد تخثر للاختبارات الدموية

محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات 10% EDTA[1]

يُنشَكب 0.5 مل من محلول EDTA (الكاشف رقم 22) في كلٍّ من سلسلةٍ من القوارير بسعة 5 مل (الشكل 55.2) (أو يستعمل 0.2 مل في قوارير سعتها 2 مل)، وتترك القوارير مفتوحة حتى تجف في حرارة الغرفة أو توضع في الحاضنة بدرجة 37 س إن توافرت.

تستعمل هذه القوارير لما يلي:

- تعدادات الكريات الدموية.
- تقدير الهيموغلوبين (خضاب الدم).
- تعيين الزمرة الدموية.

الأنابيب المحتوية على الهيبارين

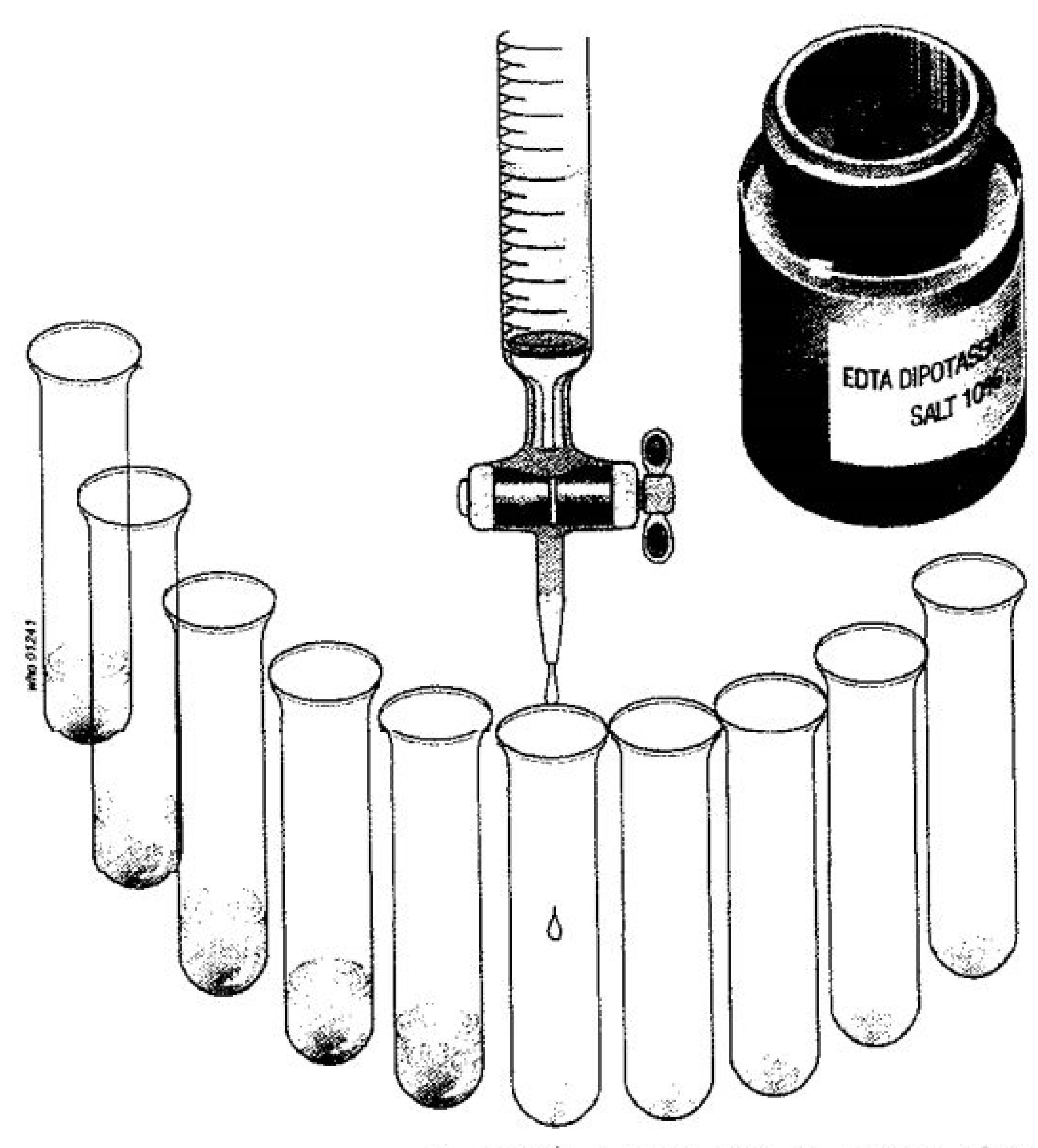
مضاد التخثر هذا غالي الثمن وليس ثابتاً كثيراً في الأقاليم الحارة. ويُحْصَل على الأنابيب المحتوية على الهيبارين عادة تجارياً، أو تُحَضَّر من قبل المختبرات المركزية، وتُعلَّم مسبقاً بشكل يبين المستوى الذي يجب أن يصل إليه الدم المضاف إليها.

المحلول المائي للسيترات الثلاثية الصوديوم

يُسْتَعْمَل المحلول المائي للسيترات الثلاثية الصوديوم 38 غ/ل (3.8 %) (الكاشف رقم 60) لتعيين سرعة تثفل الكريات الحمر.

يستعمل 1 مل من محلول السيترات الثلاثية الصوديوم لكل 4 مل من الدم (أو 0.4مل لكل 1.6مل من الدم).

[1] يعرف حمض رباعي خل ثنائي أمين الإيثيلين أيضاً باسم حمض الإيد تيك.



الشكل 55.2. توزيع محلول الإيديتات في قوارير لأخذ نماذج الدم.

ملاحظة هامة: عدم إجراء تعداد الكريات الدموية على الدم المضاف إليه السيترات.

مع مضاد تخثر للاختبارات الكيميائية الحيوية

فلوريد الصوديوم (NaF) هو مضاد التخثر المستعمل عادةً للاختبارات الكيميائية الحيوية.
يستعمل 10مغ من مسحوق فلوريد الصوديوم لكل 10مل من الدم أو 2 مغ لكل 2 مل من الدم.
يستعمل من أجل:

- تقدير غلوكوز الدم.
- تقدير اليوريا الدموية (بعض الطرائق).

تحذير: فلوريد الصوديوم سامّ.

الاحتياطات التي ينبغي اتخاذها عند استعمال مضادات التخثر

- ينبغي مزج الدم بمضاد التخثر حالَ أخذه بتقليب القارورة عدة مرات بلطف وانتظام، ولا يجوز رج القارورة.
- تُستعمل قوارير نظيفة تُجَفَّف قبل إضافة مضاد التخثر.

تحذير: إن آثار المنظف تَحُلّ الكريات الحمراء.

- تُختَزَن القوارير المحتوية على مضادات التخثر في مكان جاف. إن محلولَ الإيديتات وفلوريدَ الصوديوم ثابتان في حرارة الغرفة، ولكن محلولَ السيترات الثلاثية الصوديوم والهيبارينَ يجب أن يُحفَظا في الثلاجة.
- يجب التقيد بالمقادير الموصوفة. تستعمل القوارير والأنابيب التي تحمل علامة تدريج أو يُلْصَق عليها لُصاقة بحيث تصل حافة اللصاقة العليا إلى مستوى مقدار الدم المطلوب (2مل، 5مل، الخ...).

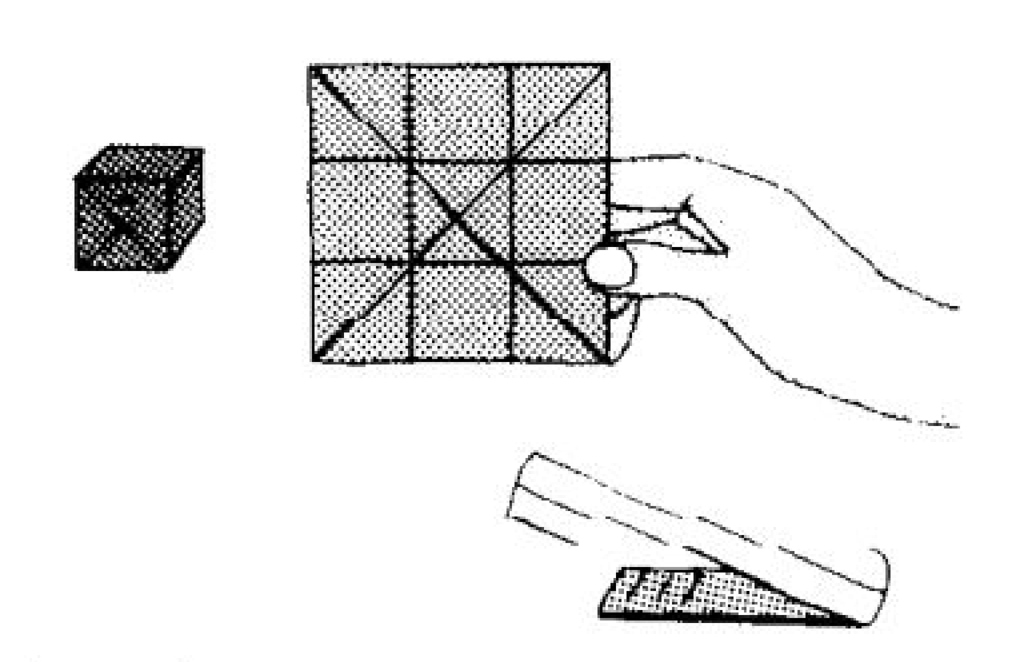
قوارير وأنابيب لأخذ نماذج أخرى

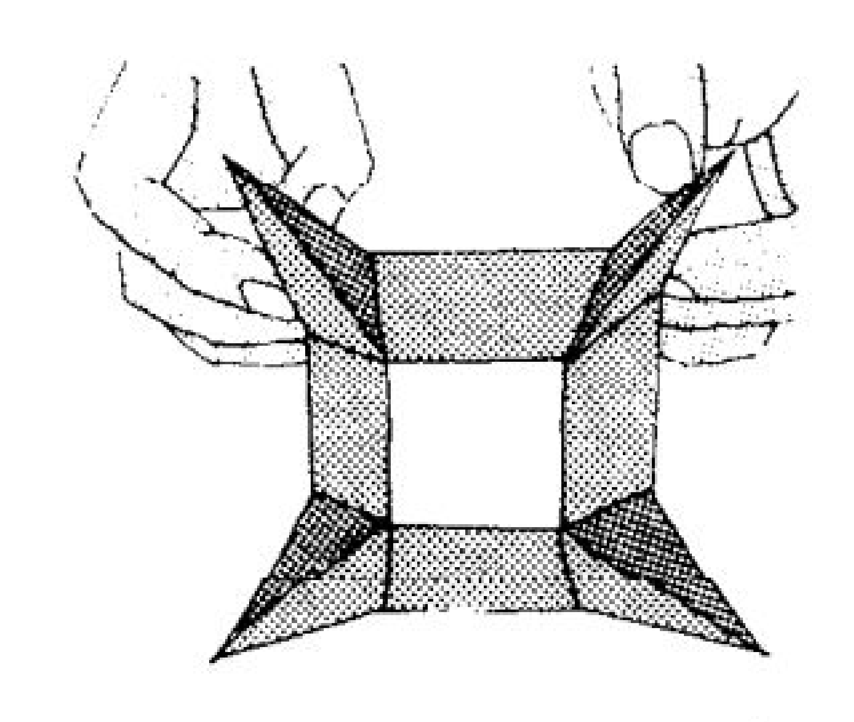
- البول: إن أفضل إجراء لأخذ البول هي أن يستطيع المرضى أن يبولوا في مكان قريب من المختبر. تُسْتَعْمَل حواجل إيرلنماير واسعة الفوهة سعتها 250 مل أو قوارير نظيفة واسعة الفوهة من أجل أخذ البول.
- من أجل الأنابيب لأخذ السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي) (الفقرة 2.8).

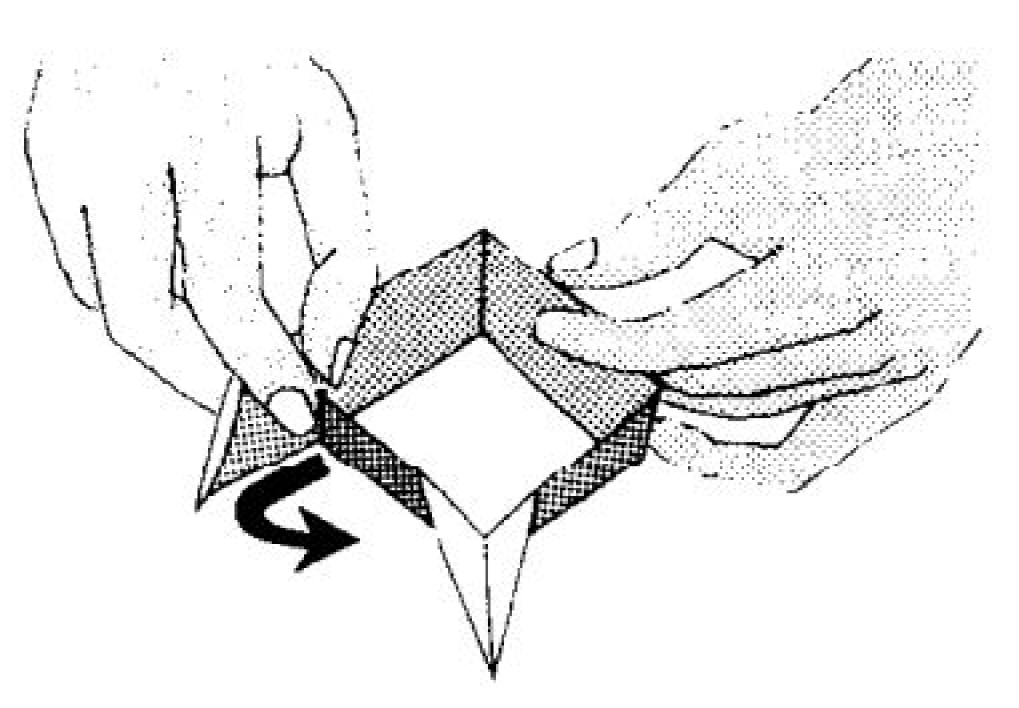
العلب والحناجير لأخذ نماذج البلغم أو القشع

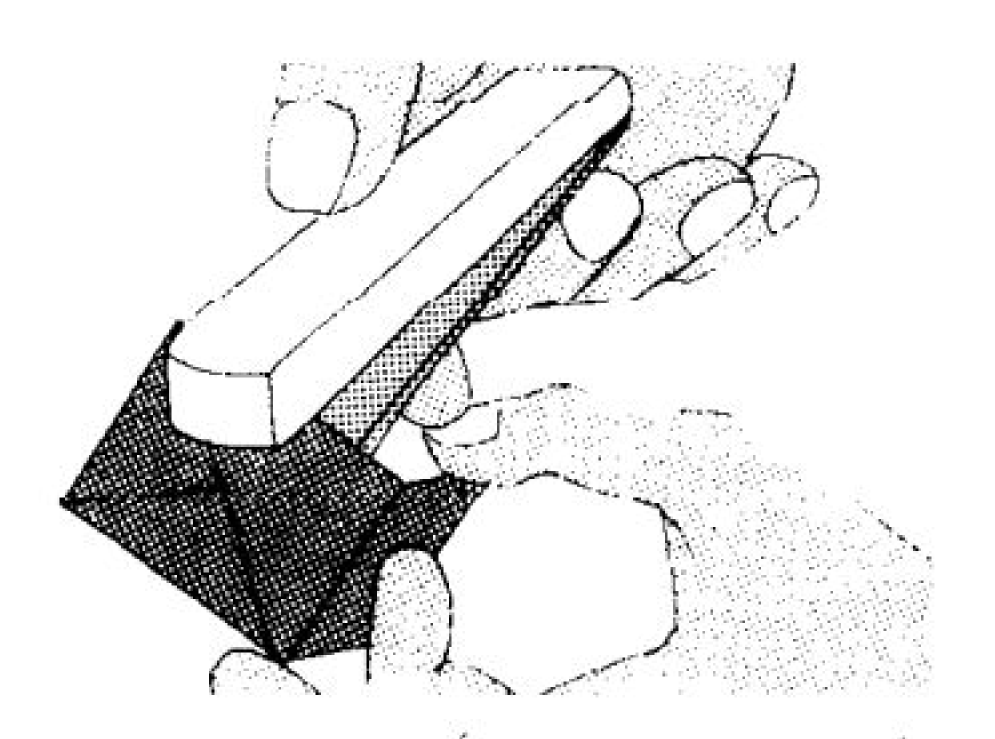
يمكن استعمال حناجير زجاجية ذات غطاء مُلوْلَب أو حناجير نَبوْذة (وحيدة الاستعمال) من البلاستيك ذات أغطية، أو يمكن عمل علب صغيرة من الورق المُقَوَّى في المختبر باستعمال الورق المقوى والخَرَّازَة. ويمكن أن تستعمل هذه العلب من المقوى مرة واحدة فقط للبلغم أو للقشع الذي يؤخذ في المختبر نفسه.

1. تُقَصّ قطع من الورق المقوى المربع طول ضلعها 18 سم وتُثْنَى كما هو مبين في الشكل 56.2:
   - قطرياً (من زاوية إلى زاوية) في البدء،
   - ثم إلى تسعة مربعات متساوية.
2. تثنى الثَّنْيات القطرية في مربعات الزوايا إلى الداخل (الشكل 57.2).
3. تثنى اثنتان من الزوايا إلى الخلف باتجاه أحد الجانبين والزاويتان الأُخْرَيَان باتجاه الآخر (الشكل 58.2).
4. تُخْرَز الزاويتان المُثَنيَّتان على كل جانب من العلبة (الشكل 59.2) فتصبح بذلك جاهزة للاستعمال.
5. تُحْرَق هذه العلب والحناجير البلاستيكية بعد استعمالها كما هو موصوف في الفقرة 2.6.3.


الشكل 56.2. ثني الورق المقوى لعمل علب من الورق المقوى، لأخذ البلغم أو القشع.


الشكل 57.2. ثني الزوايا إلى الداخل.


الشكل 58.2. ثني اثنتين من الزوايا إلى الخلف باتجاه أحد جانبي علبة الورق المقوى.


الشكل 59.2. تمكين الزوايا المثنية بالخَرْز.

6.5.2 التخزين وجَرْد المُخْتَزَنَات وطلب التجهيزات (الإمدادات)

التخزين

الزجاجيات

تحفظ الزجاجيات على رفوف في خزائن محفوظة من الغبار. فَحَواجل إيرلنماير والحواجل المدورة يجب أن تُسَدّ بالقطن غير الماص، أو تُسْتَرَ بورق أسمر(أو الأفضل بصفائح رقيقة من شمع البرافين أو البلاستيك اللَصوقَة، إن توافرت)، وترتب بحسب نمطها وحجمها؛ أما المِمَصّات المدرجة فينبغي أن تحفظ في أدراج مقسمة إلى أقسام.

الكيماويات والكواشف

تُنَظَّم الكيماويات والكواشف بترتيب ألفبائي دقيق، وينبغي للحموض والكيماويات اللَهوْبَة والخطرة (التي تدل عليها اللُصاقات الملونة المناسبة) أن تُخْتَزَن على حِدَة في قسم خاص. أما المُخْتَزَنَات غير المفتوحة فيجب أن تحفظ في صناديق مملوءة نُشارة الخشب.
أما السموم (وتدل عليها كذلك لصاقات ملونة مناسبة) فينبغي أن تختزن على حدة في خزانة مُقْفَلَة.

المعدات

بعض الأدوات، كمقاييس الطيف الضوئي، يجب حفظها في غرفة مكيفة الهواء إذا كان الإقليم حاراً ورطباً.
ولتخزين المجاهر راجع الفقرة 6.1.3 .

جرد المُخْتَزَنَات

البطاقات المَخْزَنِيَّة stock cards

يجب أن تهيأ بطاقة مخزنية لكل مادة كيميائية أو مُلوِّن أو قطعة من الزجاجيات الخ.. ويبدو نموذج من البطاقات المخزنية في الجدول 3.2 .

عندما يطلب البَنْد، يُبَيَّن:

- في عمود «المُصْدَر» : إلى أين أرسل الطلب.
- في عمود «المطلوب» : تاريخ الطلب والكمية المطلوبة.

عندما يتم استلام البند، يبين:

- في عمود «الوارد» : تاريخ الاستلام والكمية المُسْتَلَمَة.
- في عمود «المخزون» : مجمل ما هو مخزون في المختبر بعد استلام هذا البند.

عندما يُسْتَهلَك البند (أو يُكْسَر)، يبين:

- في عمود «الصادر» : تاريخ الصدور (الاستهلاك) والكمية الصادرة (المستهلكة).
- في عمود «المخزون» : مجمل ما تبقى مخزوناً بعد صدور (استهلاك) البند.

الجدول 3.2. نموذج لبطاقة مخزنية.

البند: ملون غيمزا (قارورة 250 مل)								رقم البند:2
المَصْدَر	المطلوب		الوارد		الصادر		المَخْزون	
	التاريخ	الكمية	التاريخ	الكمية	التاريخ	الكمية		
							2 قارورتان	
شركة أ	01/8/1	قارورتان	01/8/20	1 قارورة			4 قوارير	
					01/10/10	1 قارورة	3 قوارير	
					01/12/3	1 قارورة	2 قارورتان	
شركة ب	01/11/15	قارورتان	01/12/1	قارورتان			4 قوارير	

الجدول 4.2 . تقدير كمية الإمدادات اللازمة.

السنة	الكمية المستعملة في الشهر											
	ش1	ش2	ش3	ش4	ش5	ش6	ش7	ش8	ش9	ش10	ش11	ش12
2000												
2001												
2002												

تصنف البطاقات المخزنية وفق ترتيب ألفبائي وتحفظ في علبة أو دُرْج التصنيف. ويمكن أن يعطى رقم لكل بَنْد، وعندئذ يكتب هذا الرقم في البطاقة المخزنية بعد عنوان «رقم البند».

الجَرْد inventory

يُجْرى جرد لكل التجهيزات المختبرية كل ستة أشهر، فتُحْصى كمية أو عدد كل بند موجود في المخزن، ويتم التحقق من أن الرقم يناسب الرقم الموجود في عمود «المخزون» على البطاقة المخزنية.

طلب التجهيزات

إن مختبراً جيد التنظيم يجب أن يقدم طلباً إلى مخازن الإمداد المركزية كل ثلاثة أشهر؛ وفي سبيل عمل هذا الطلب يجري تفقّد البطاقات المخزنية واحدة فواحدة.

مما يُسهّل تقدير الكميات اللازمة عملُ جدول يلخص المخزون المُسْتَعمل كل شهر (انظر: الجدول 4.2) يضاف إلى آخر كل بطاقة مخزنية:

وفي حالة الكيماويات والمُلَوِّنات والكواشف: يُطلب نفس المقدار الذي استُعْمِل في مدة ثلاثة شهور، مع الأخذ بعين الاعتبار ما يُحْتَمَل من زيادة أو نقص في المقدار المستعمل؛ مثلاً:

- 8 قوارير من ملون غيمزا استعملت خلال سنة.
- هذا يعطي متوسطاً قدره قارورتان في كل ثلاثة أشهر.
- إذن تُطلب قارورتان كل ثلاثة أشهر (أو أربع قوارير كل ستة أشهر إذا كانت الطلبات تقدم مرتين في العام)

تواريخ الانقضاء أو انتهاء الفعالية expiry dates

بعض الكواشف (المصول الضدية للزمر الدموية، المستضدات الخ...) ينبغي أن تستعمل قبل تاريخ معين، فيجب كتابة تاريخ الانقضاء على الوعاء من قبل المُزَوِّد، كما يجب ذكر تاريخ الانقضاء على البطاقة المخزنية في العمود المُعَنْوَن «المخزون».

6.2 تسجيل النماذج وتحضير التقارير الشهرية

1.6.2 تسجيل النماذج

يجب أن ترقم وتسجل كل النماذج بمجرد وصولها إلى المختبر وأن تُسَجَّل نتائج جميع الاستقصاءات، وهذا:

- يجنبنا اختلاط النماذج؛
- يمكّننا من العثور على النتيجة؛
- يجعل النتائج متوافرة لتعزيز الصحة العامة.

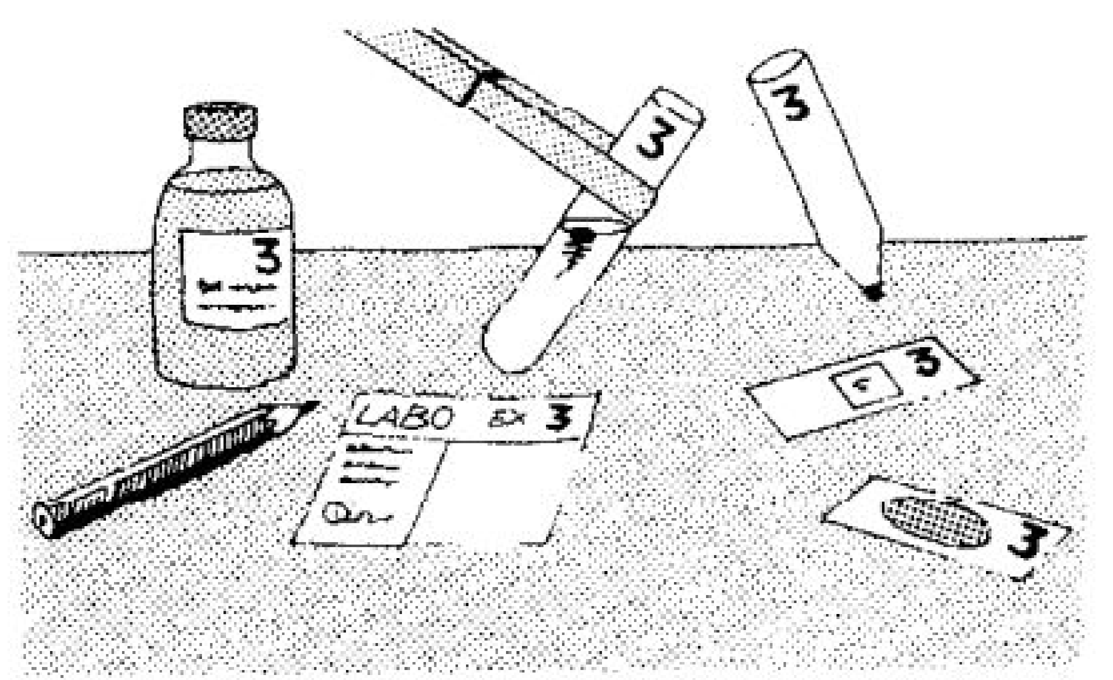
ينبغي أن يكون في المختبر:

- استمارات لطلب الفحوص ترافق النماذج؛
- سجل لتسجيل التفاصيل المتعلقة بالنماذج والنتائج التي تم الحصول عليها؛
- استمارات التقارير الشهرية.

ترقيم النماذج (الشكل 60.2)

يُعطى كل نموذج رقماً بمجرد استلامه، ويكتب هذا الرقم فوراً:

- على استمارة الطلب
- على وعاء النموذج (باستعمال القلم الشمعي)
- على كل أنبوب اختبار يُستعمل للنمودج
- على كل شريحة مجهرية تُستعمل لنفس النموذج.
- وسوف يضمن ذلك عدم وقوع أية أخطاء.



الشكل 60.2. ترقيم النماذج.

السجلات المختبرية

إن كل نموذج مُرَقَّم ينبغي أن يُسَجَّل في سجل خاص بنمط النموذج؛ ويوصى عادة بإيجاد السجلات التالية:

- الدمويات.
- كيمياء الدم.
- تحليل البول.
- فحص السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي).
- اختبارات الحمل.
- الجرثوميات.
- الطفيليات.
- الفُطْرِيَّات.
- السيرولوجيا (المصليات) (إذا كانت العينات قليلة تُدْرَج في سجل الجرثوميات، وإلا فإنها تحفظ في سجل مستقل).
- الهيستوباثولوجيا (التشريح المرضي).
- تحليل المياه.

تبدي الجداول 5.2 – 11.2 أمثلةً لبعض هذه السجلات والتي يمكن تعديلها وفق الاحتياجات، فمن الممكن مثلاً ضَمّ سجلات تحليل البول وفحص السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي) واختبارات الحمل.

ومما يساعد ويوفر الوقت، أن يكون لدينا أختام مطاطية تستعمل لأكثر الاختبارات والنتائج شيوعاً؛ فمثلاً:

- من أجل الطفيليات: لم تُشاهد بيوض أو طفيليات.
- من أجل الجرثوميات: عدد الكريات البيض
  عدد الكريات الحمر
  عدد الخلايا الظهارية
  عدد الفطريات وغيرها

2.6.2 تحضير التقارير الشهرية

يجب أن يقدم المختبر في نهاية كل شهر تقريراً إلى مدير الخدمات المختبرية على المستوى المركزي أو–إذا لم يوجد– فإلى قسم الصحة العامة على كل من مستوى المقاطعة والمستوى المركزي. وهذا التقرير قَيِّم لسببين رئيسين:

أولاً: يساعد في الرقابة أو التدقيق على الأنشطة المختبرية، ويفيد في ضمان تعيين العدد الكافي من العاملين والموظفين وفي طلب التجهيزات (الإمـدادات) من المستودعات المركزية وفي تهيئة الميزانية للخدمات المختبرية على الصعيد الوطني. والتقارير المبنية على عدد الاختبارات المُجراة هي الأكثر ملاءمة.
ثانياً: يساعد التقرير الشهري في المراقبة الصحية العامة للمنطقة التي يغطيها لأنه يسجل عدد النتائج الإيجابية التي تم الحصول عليها لمختلف الأمراض السارية. وقد ذُكِر مثال لتقرير شهري في الجدول 12.2.

الجدول 5.2. سجل الدمويات.

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرسِل	تركيز Hb بـ (غ/ل)	الكريات الحمر				الكسر العددي للشبكيات.	MEHC (غ/ل)	الكريات البيض						الملاريا (البرداء)	الإختبارات الاخرى	تاريخ ارسال النتائج
					الكسر الحجمي	سرعة التثفل (م/سا)	التركيز العددي	المورفولوجيا			التركيز العددي	الكسر العددي للنمط (الصبغة الكروية)							
2/1/01	1	السيد انظر.	الطبيب م.	117	–	23	–	تفاوت الكريات +– تبكّل الكريات + تعدد اشكال النواة ++	0×124^{-3}	–	4.2×10^{9} ل	0.48	0.35	0.13	0.04	–	كثير من اتاريف المتصورة النجلية	–	2/1/01
2/1/01	2	السيدة ب.	قسم العيادات الخارجية	58	0.21	52	–	تفاوت الكريات +– تبكل الكريات + + ناقصة الصباغ ++ تعدد اشكال النواة ++	10×0.071^{-3}	276	5.7×10^{9}ل	0.32	0.56	0.04	0.08	–	اعداد معتدلة من اتاريف المتصورة النجلية	–	2/1/01

Hb: الهيموغلوبين؛ MEHC: التركيز الحجمي لهيموغلوبين الكرية الوسطي.

أ الشرح عناوين الاعمدة، انظر: الفقرات المتعلقة بها في النص. ب يمكن ان نسجل نتائج الهيموغلوبين ايضاً معبراً عنها بتركيز المادة، فيصبح عنوان العمود عندئذ «الهيموغلوبين (حديد). تركيز المادة (ممول/ل)»؛ وفي تلك الحالة تصبح القيم الواردة في المثالين هي 7.3 و 3.6 ممول/ل على التوالي. ج يمكن ان يسجل تركيز الشبكيات ايضا معبرا عنه بالتركيز العددي اي عددها باللتر؛ فيصبح عنوان العمود في تلك الحالة «التركيز العددي للشبكيات»، وتتوقف القيم على التركيز العددي للكريات الحمر (غير مسجل في الامثلة المذكورة). د يمكن ان يعبر ايضا عن MEHC بتعبير تركيز المادة؛ فيصبح عنوان العمود «تركيز هيموغلوبين (حديد) الكرية الوسطي (مول/ل)» وفي تلك الحالة تصبح للمثال الوارد (رقم 2) القيمة 17.1.

الجدول 6.2 . سجل كيمياء الدم.

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرسِل	اليوريا (البولة)، تركيز المادة (ممول/ل)	تركيز لغلوكوز ممول/ل	اختبارات اخرى (تعيّن)	تاريخ ارسال النتائج
2/1/01	1	السيدة و.	الجناح 1	12.8	–		2/1/01
2/1/01	2	السيد غ.	الطبيب و	–	5.3		2/1/01

الجدول 7.2. سجل تحليل البول .

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرسِل	الكثافة النسبية	الباهاء pH	الفحص المجهري المباشر	اختبر الغلوكوز	اختبار البروتين	اختبار الأصبغة الصفراوية	اختبار اليوروبيلينوجين	اختبار الكيتونات	الاختبار الكيميائي لتحري الدم	اختبارات اخرى (تعيّن)	تاريخ ارسال النتائج
2/1/01	1	السيد ك.	الطبيب انظر.	1.008	7.0	كريات بيض (20–30/س.ت.ع)، اسطوانات هيالينية قليلة	سلبي	سلبي	لم يُجرَ	لم يُجرَ	لم يُجرَ	لم يُجرَ	لم تجرَ اختبارات اخرى	2/1/01
2/1/01	2	لسيدة و.	الطبيب أ.	1.012	6.8	كريات بيض (5–10/س.ت.ع)، خلايا ظهارية قليلة	+++	سلبي	لم يُجرَ	لم يُجرَ	+	لم يُجرَ	اختبار الحمل: ايجابي	2/1/01

س.ت.ع : ساحة التكبير العالي؛ + : ضعيف الايجابية ؛ ++ : معتدل الايجابية؛ +++ : شديد الايجابية.

الجدول 8.2. فحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)(في نفس سجل تحليل البول أو في سجل منفصل).

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرسِل	المظهر العيني	الفحص المجهري المباشر	التركيز العددي للكريات ابيض	تركيز الغلوكوز (إمول/ل	تركيز البروتين (الإجمالي (غ/ل	اختبار باندي لتحري لغلوبولين	(اختبارات أخرى تُعَيَّن)	تاريخ إرسال النتائج
201/1/	1	.الآنسة و	.الطبيب غ	عَكِر	يبدي تلوين غرام الكثير من الكريات البيض والقليل من المكورات المزدوجة السلبية الغرام داخل الخلايا	30	1.5	0.45	+	الكسر العددي لنمط الكريات البيض: العدلات 0.94، اللمفاويات 0.06	201/1/
1701/1/	2	.السيد ل	.الطبيب ك	رائق	لم يُجْرَ	4	3.3	0.25	سلبي	لم تجْرَ	1701/1/

الجدول 9.2. سجل الجرثوميات.

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرسِل	النموذج	الفحص المطلوب	النتيجة	تاريخ إرسال النتائج
201/1/	1	السيد ج	الطبيب ر	بلغم أو قشع	الفحص المجهري للطاخة لتحري عصيات السل	لم تُشاهَد عصيات مقاومة للحمض	201/1/
201/1/	2	السيدة أ	الجناح الطبي 2	قيح من جرح	الفحص المجهري للطاخة بتلوين غرام	كثير من الكريات البيض، قليل من لكريات الحمر،قليل من الخلايا الظهارية، أعداد معتدلة من عصيات سلبية الغرام	201/1/
301/1/	3	السيد ل	الطبيب م	قيح إحليلي	الفحص المجهري للطاخة بتلوين غرام	شوهدت أعداد معتدلة من مكورات مزدوجة سلبية الغرام داخل الخلايا، بما فيها المكورات البنية	301/1/
301/1/	4	السيدة انظر	الجناح الطبي 1	سائل نخاعي	الفحص المجهري للطاخة بتلوين غرام	عدد نادر من الكريات البيض والخلايا الظهارية، لم تُشاهَد كريات حمر أو أحياء(جراثيم)	301/1/

الجدول 10.2. سجل الطفيليات.

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرْسِل	النموذج المُرْسَل	الفحص المطلوب	النتائج	تاريخ إرسال النتائج
01/1/2	1	السيد ف.	الطبيب أ	براز	الطفيليات المعوية	بالفحص المباشر: شوهدت أعداد معتدلة من بيوض الأسكاريس (الصفر الخراطيني)	01/1/2
01/1/2	2	الآنسة م	الطبيب ك.	براز	الطفيليات المعوية	بالفحص المباشر: لم تُشاهد بيوض أو طفيليات بطريقة التركيز: لم تشاهد بيوض أو طفيليات	01/1/2
01/1/2	3	السيدة ل.	الجناح الطبي1	جُذاذات جلدية	كلابية الذنب	لم تشاهد طفيليات	01/1/2
01/1/2	4	السيد س.	الطبيب انظر.	براز	الطفيليات	الدم الخفي: إيجابي شوهد كثير من أتاريف المتحولة الحالة للنسج وقليل من بيوض الدودة الشصية (الأنكلستوما)	01/1/3

الجدول 11.2. سجل السيرولوجيا (المصليات).

التاريخ	رقم النموذج	المريض	المُرْسِل	النموذج	الفحص المطلوب	النتائج	تاريخ إرسال النتائج
01/1/3	1	السيدة ب.	عيادة الحوامل	دم	اليزا لتحري أضداد فيروس الإيدز HIV	غير متفاعل	01/1/3
01/1/3	2	السيدة ت.	الطبيب م.	دم	اليزا لتحري أضداد فيروس الإيدز HIV	متفاعل، 8:1	01/1/3

الجدول 12.2. عينة تقرير شهري للمختبر الصحي.

اسم المختبر ______	
تقرير لنهاية الشهر ______	
سجل المختبر	
عدد الفحوص المجراة :	
الدمويات (على العموم)	1235
الكيمياء الدموية	27
تحليل البول :	
– بالفحص المباشر	287
– كيميائياً	43
اختبارات الحمل	17
فحوص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) :	
– بالفحص المباشر	3
كيميائياً	3
الطفيليات :	
– فحوص البراز	162
– فحوص الدم	802
– فحوص أخرى (مثلاً فحص العقد اللمفية لتحري المثقبيات)	2
الجرثوميات :	
– تلوينات غرام	63
– تلوينات صامدة للحمض	41
– تلوينات وايسون	11
الفُطْريات	3
المصليات:	
– الكيفي	114
– الكمي	16
عدد النماذج المرسلة إلى المختبرات المتخصصة :	
ماء للتحاليل الباكتريولوجية	8
نماذج للزرع الباكتريولوجي	32
مصول للاختبارات المصلية	0
خزعات نسجة	2
غيرها	0
سجل الأمراض السارية[a]	
عدد الحالات المُسَجَّلَة.	
السيلان	11
الجذام	0
الطاعون	0
السل (التدرن)	7
داء الأميبات	14
داء الصفر (الاسكاريس)	22
داء الفيلاريات	1
الدودة الشصية (الأنكلستوما)	80
الملاريا (البرداء)	253
كلابية الذنب	0
داء البلهارسيات	2

[a] تختلف قائمة الأمراض السارية التي يجب التبليغ عنها من بلد إلى آخر، وتُعَيِّنها السلطة الصحية العمومية المركزية بالاستناد إلى :

– التشريعات الدولية للإبلاغ عن الأمراض السارية.

– الأمراض المنتشرة في المنطقة.

3. إجراءات عامة في المختبر

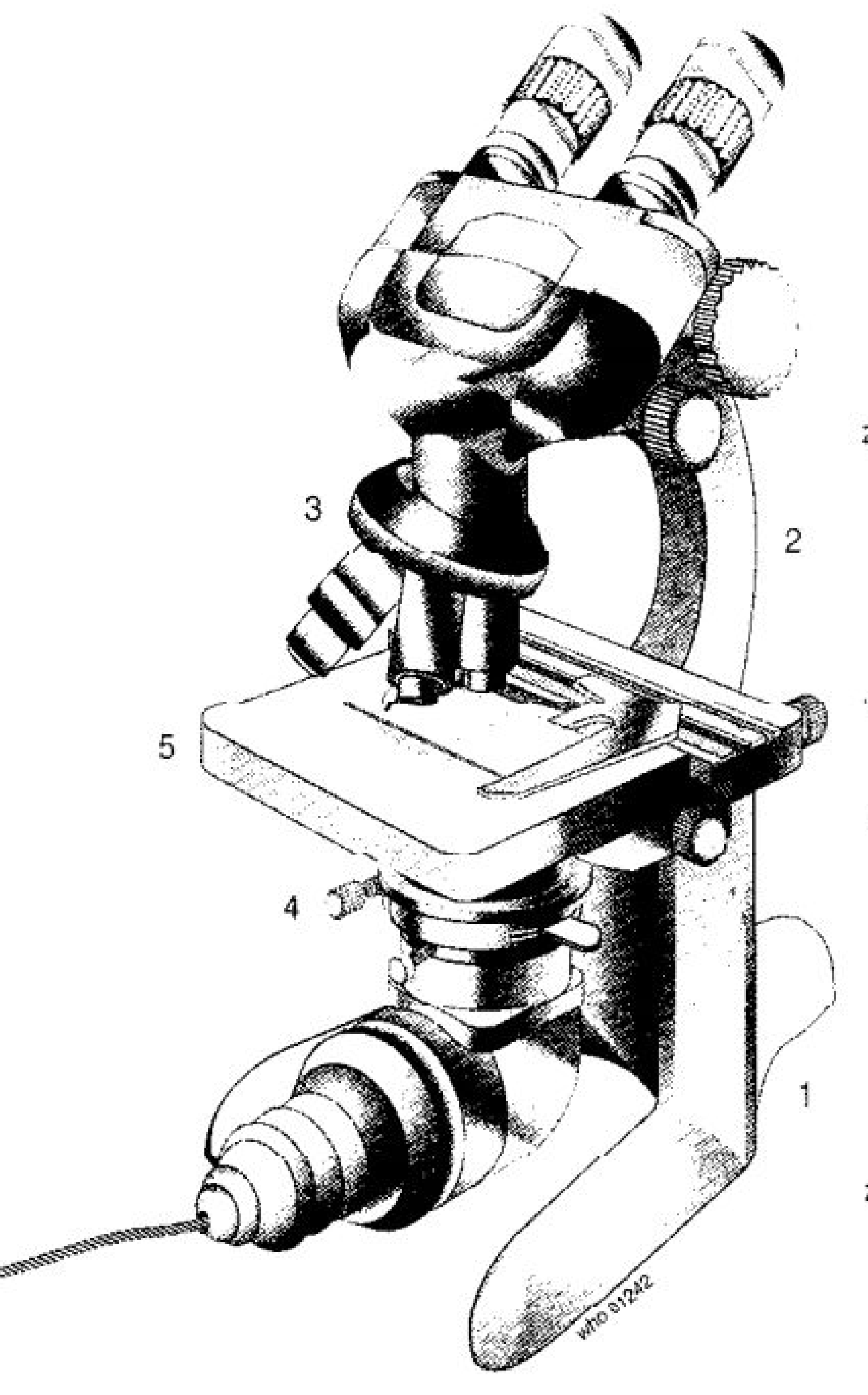
1.3 استعمال المِجْهَر microscope

المجهر هو جهاز أساسي لتشخيص الأمراض، وهو أيضاً أداة دقيقة ويتطلب الصيانة بعناية للوقاية من تأذي الأجزاء الميكانيكية والبصرية وكذلك لمنع الفُطْريّات من طمس العدسات.

1.1.3 مكونات المجهر

يُمكِن تصنيف مكونات المجهر إلى أربعة جمل:

- الجملة الحاملة.
- جملة التكبير.
- جملة الإضاءة.
- جملة الإحكام.



الشكل 1.3. مكونات الجملة الداعمة للمجهر.
1: القاعدة أو القدم؛ 2: العماد؛ 3: الأنفية الدوارة؛ 4: الرف؛ 5: الرف الميكانيكي.

الجملة الحاملة support system (الشكل 1.3)

وتتألف مما يلي:

- القاعدة أو القدم (1).
- العماد (2).
- الأنفيّة الدَوّارة (بَدّالة الشيئيات) (3).
- رف المجهر (4).
- دَرّاجة المجهر (الرف الميكانيكي) (5) التي تسمح بتحريك الشريحة بحركة بطيئة قابلة للتحكم.

جملة التكبير magnification system (الشكل 2.3)

وتتألف من جملة من العدسات. وتقسم عدسات المجهر إلى زمرتين تركب كل منهما في إحدى نهايتي أنبوب طويل هو أنبوب بدنية المجهر.

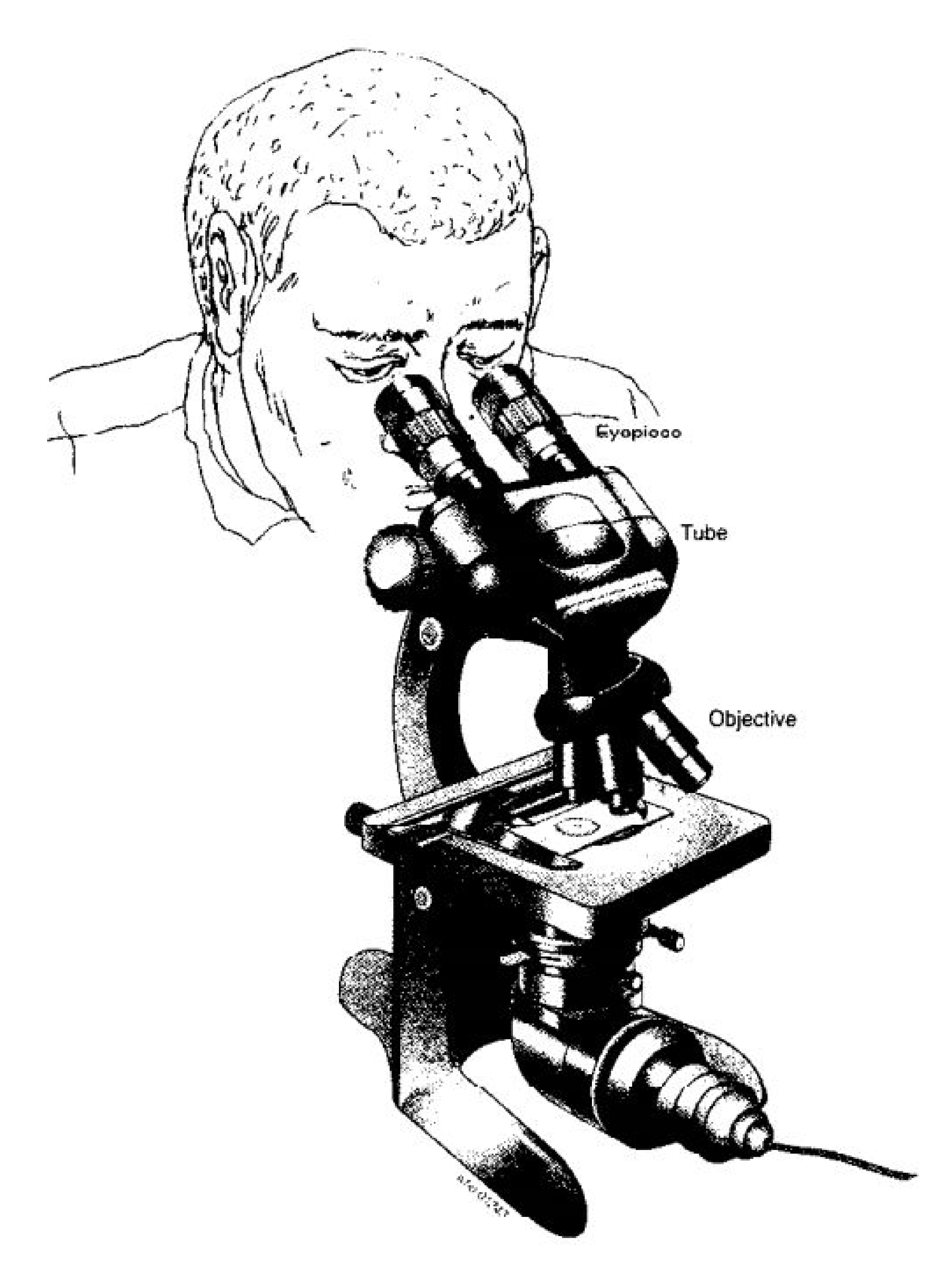
- تركب الزمرة الأولى في أسفل هذا الأنبوب، فوق المحضر المراد فحصه مباشرة (الشيء المفحوص) وتدعى العدسات الشيئية.
- وتُركب الزمرة الثانية في أعلى هذا الأنبوب وتُدعى العينية.

الشَّيْئِيّات objectives

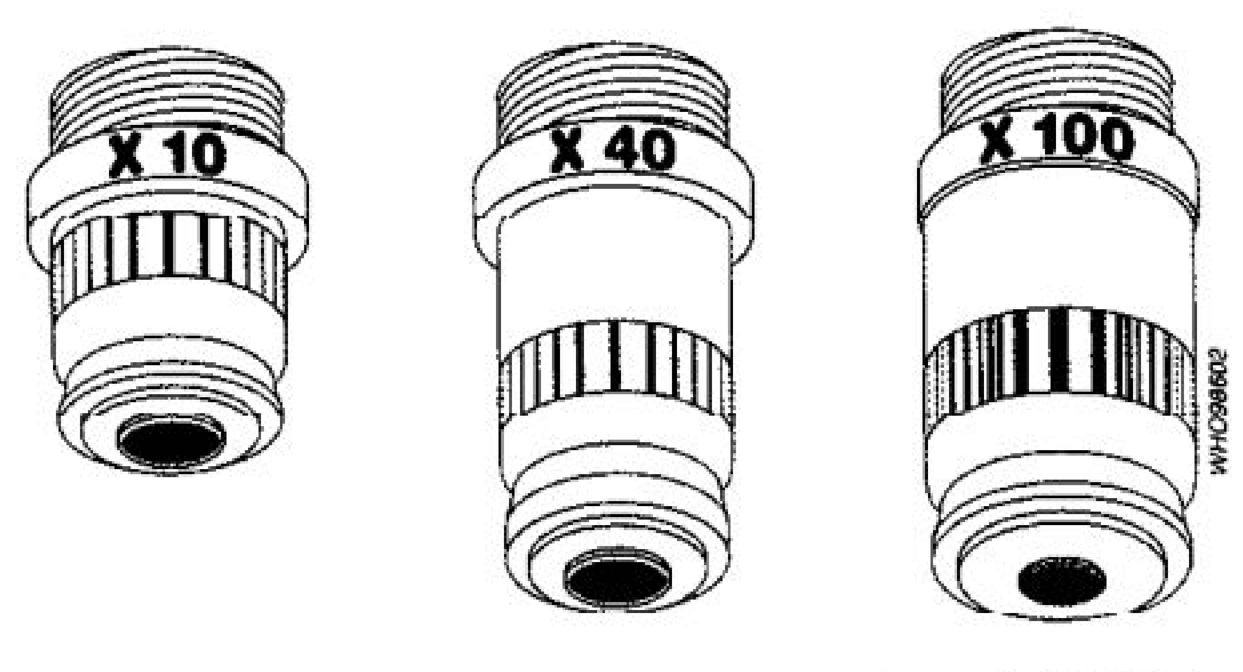
التكبير

تتمثل قدرة تكبير كل عدسة شيئية برقم محفور على مِضْوان sleeVe العدسة (الشكل 3.3).

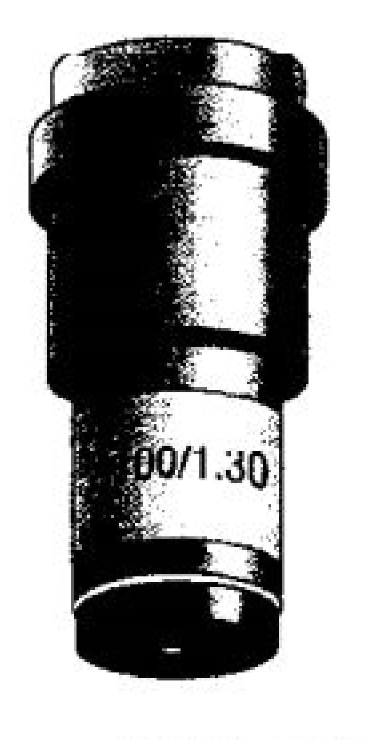
- فالشيئية 10× تكبر عشر مرات؛
- والشيئية 40× تكبر أربعين مرة؛
- والشيئية 100× تكبر مئة مرة.



الشكل 2.3. مكونات جملة التكبير.

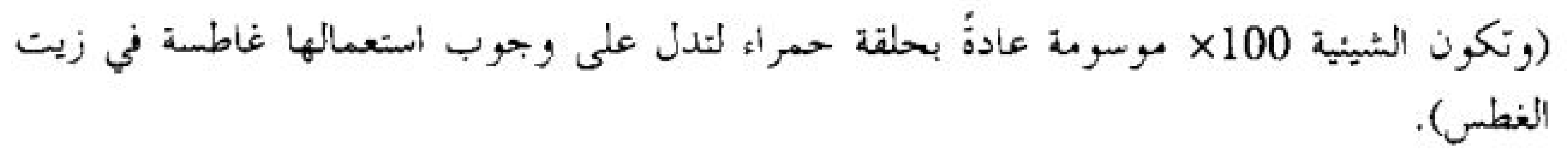


الشكل 3.3. العدسات الشيئية.



الشكل 4.3. الفتحة العددية.

(وتكون الشيئية 100× موسومة عادةً بحلقة حمراء لتدل على وجوب استعمالها غاطسة في زيت الغطس).



الفتحة العددية numerical aperture

تكون الفتحة العددية محفورة كذلك على مصوان العدسة بعد الرقم الذي يدل على التكبير (الشكل 4.3)، فمثلاً:

- 0.30 على الشيئية 10×
- 0.65× على الشيئية 40×
- 1.30× على الشينية 100×.

وكلما كبرت الفتحة العددية، زادت قدرة المَيْز.

وكذلك كلما كبرت الفتحة العددية صغرت العدسة المُجابهة أي جبهة العدسة الشيئية المُعَرَّضة في قاعدتها فالعدسة المجابهة للشيئية 100× تكون بحجم رأس الدبوس ويجب أن تعامل بعناية أكثر.

أرقام أخرى قد تكون مُعَلَّمَة على مِضوان العدسة

يمكن أن يَعْرِض المصوان أيضاً:

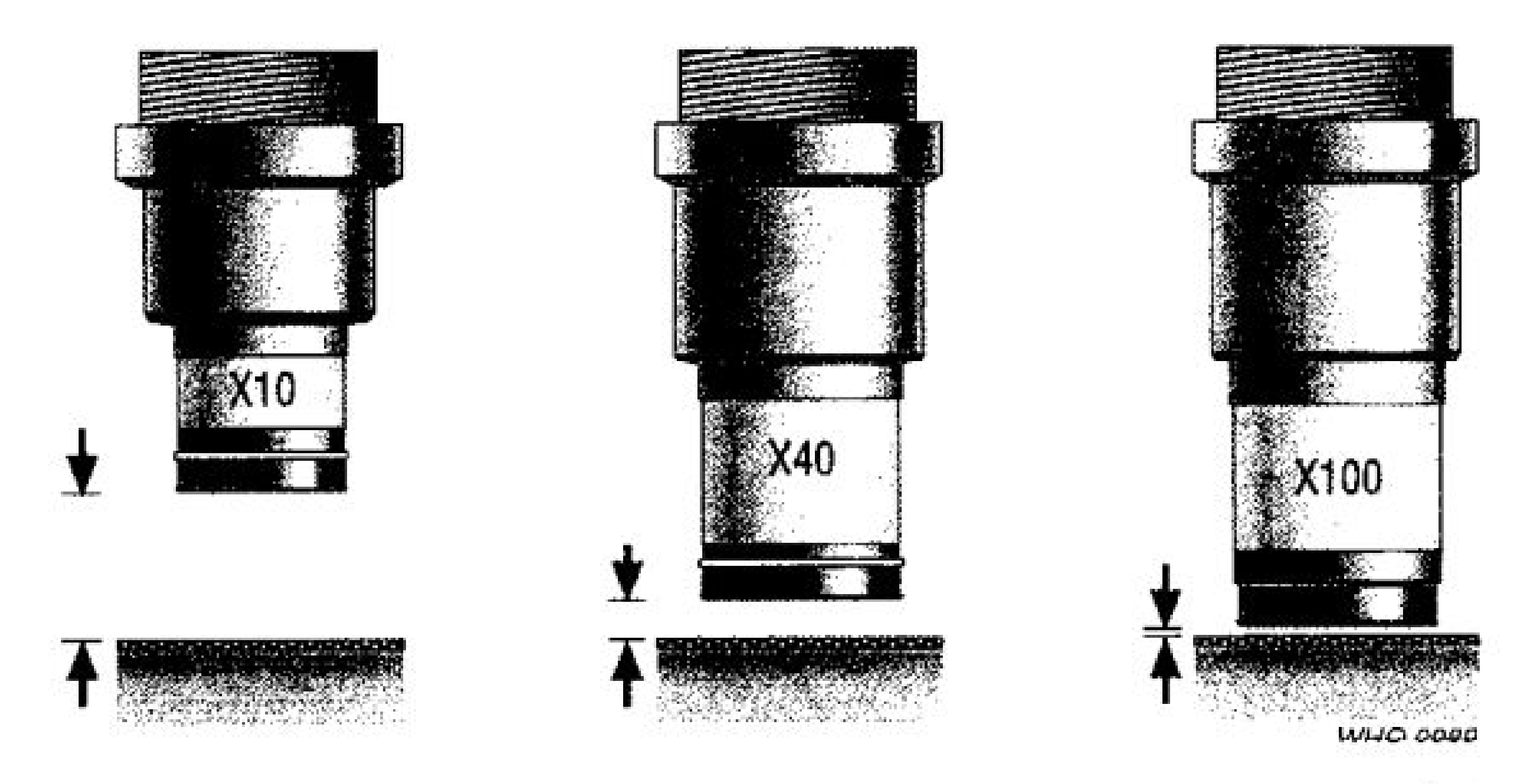
- الطول الموصى به للأنبوب البصري مقدراً بالميليمتر (ما بين الشيئية والعينية) وهو 160 م عادة؛
- الثخن الموصى به للساترة المستعملة في تغطية شريحة الشيء المفحوص، مقدراً بالميليمتر مثلاً 0.16م.

وتكون أخاديد لوالب كل الشيئيات معيارية، بحيث يمكن تركيب إحداها مكان الأخرى.

المسافة التَّشْغِيْلِيَّة working distance

المسافة التشغيلية للشيئية هي المسافة ما بين العدسة المجابهة في الشيئية (أقرب قسم منها إلى الشيء المفحوص) وبين شريحة الشيء المفحوص عندما يكون خيال الشيء المفحوص في بؤرة العدسة. وكلما زادت قوة تكبير الشيئية نقصت المسافة التشغيلية للشيئية (الشكل 5.3).

- ففي الشيئية 10× تكون المسافة التشغيلية 5–6 م
- وفي الشيئية 40× تكون المسافة التشغيلية 0.5–1.5م
- وفي الشيئية 100× تكون المسافة التشغيلية 0.15–0.20 م.



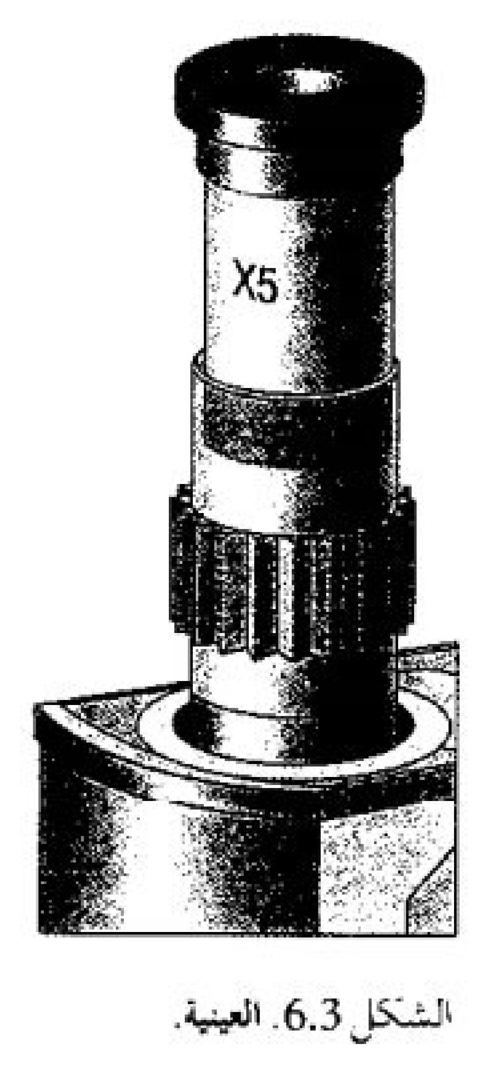
الشكل 5.3. المسافة التشغيلية للشيئية.

قدرة المَيْز resolVing power

قدرة الميز لشيئية هي مقدرتها على كشف التفاصيل المتلاصقة في الشيء والتمييز بينها على أنها تفاصيل منفصلة متمايزة؛ وكلما زادت قدرة الميز للشيئية كان الخيال أوضح.

وتكون قدرة الميز القصوى في المجهر الجيد في المختبر الطبي حوالي 0.25 مكم (علماً بأن قدرة الميز لعين الإنسان الطبيعي هي 0.25 م).

ويزيد زيت الغطس من قدرة الميز لأنه يحافظ على كثير من الأشعة الضوئية التي قد تُفْقَد بالانكسار إن استعملت شيئية جافة.



الشكل 6.3. العينية.

العَيْنِيَّة eyepiece

التكبير

إن قدرة تكبير العينية تكون مسجلة عليها (الشكل 6.3):

- العينية 5× تكبر الخيال الناتج عن الشيئية خمس مرات؛ - العينية 10× تكبر الخيال عشر مرات.

فإذا تم تكبير الشيء المفحوص أربعين مرة بالشيئية 40× وست مرات بالعينية 5× فإن مجمل التكبير يبلغ 5×40= 200 مرة. وبناءً على ذلك، لحساب التكبير الإجمالي للشيء المفحوص تضرب قدرة تكبير الشيئية بقدرة تكبير العينية. وتتراوح قدرة تكبير المجاهر المستعملة في المختبرات الطبية ما بين 50 و1000 مرة.

بعض العينيات لها مقياس معيَّر، وهي تستعمل لقياس حجم شيء تحت المجهر.

المجاهر ذات العينية الواحدة وذات العينيتين

إن المجاهر الوحيدة العينية (أي التي ليس لها إلا عينية واحدة) تؤمن للفاحص إضاءة أفضل ويوصى باستعمالها مع الشيئيات الغاطسة 100× عندما يكون مصدر الضياء هو ضوء النهار.

أما المجاهر ذات العينيين (لها عينيتان اثنتان ولكنهما تستعملان مع شيئية واحدة كل مرة) فهي أقل إتعاباً للعينين عندما نقوم بإجراء فحوص طويلة الأمد. وتكون الإضاءة الكهربائية شرطاً أساسياً للشيئيات الغاطسة ×100.



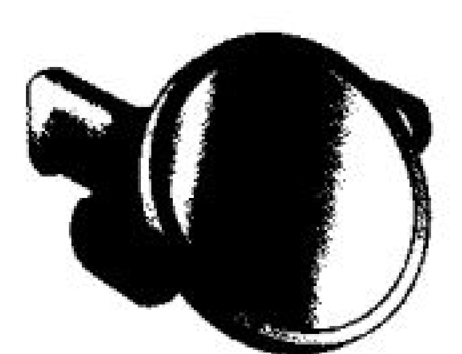
جملة الإضاءة illumination system

منبع الضياء

يُفضل استعمال الضوء الكهربائي لأنه أسهل إحكاماً؛ ويتم التزويد به إما بواسطة مصباح مندمج في بنيان المجهر تحت رف المجهر وإما بمصباح خارجي يوضع أمام المجهر. فإن لم يوجد ضوء كهربائي فيُمكن استعمال ضوء النهار، على أن المجهر لا يجوز أن يُوضَع أبداً في ضوء الشمس المباشر: صحيح أنه يجب أن يضاء إضاءة جيدة ولكن الضوء ينبغي أن يكون مخففاً، فإذا لم يكن أمامنا إلا ضوء الشمس الساطع تُوضَع قارورة أو حوجلة مستديرة من الزجاج الصافي مملوءة بالماء أمام المجهر لتخفيف شدة الضوء.

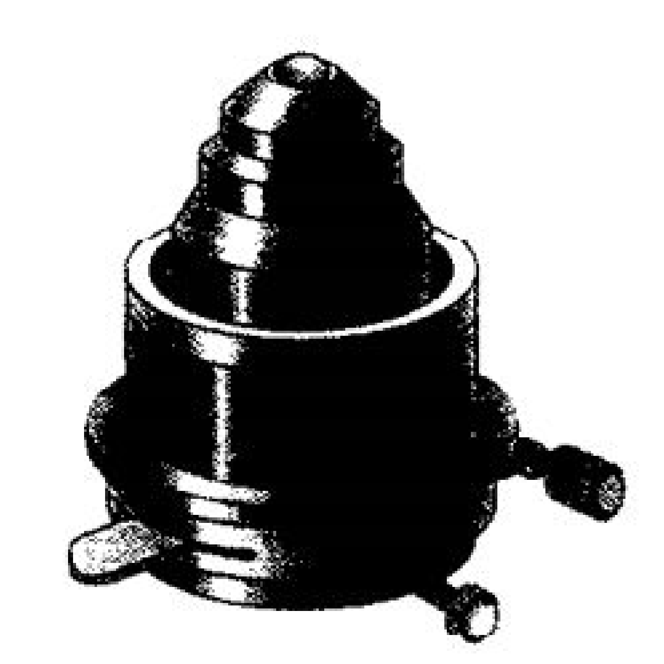
المرآة

تعكس المرآة الأشعة الآتية من المنبع الضوئي إلى الشيء المفحوص، ويكون أحد وجهي المرآة مستوياً والآخر مقعراً (الشكل7.3)، ويؤلف الوجه المقعر مكثفة ضوئية إلى حد ما ولذلك لا يُستعمل الوجه المقعر إذا كان للمجهر مكثفة في الأصل.

الشكل 7.3. مرآة المجهر.

المكثفة Condenser



الشكل 8.3. المكثفة.

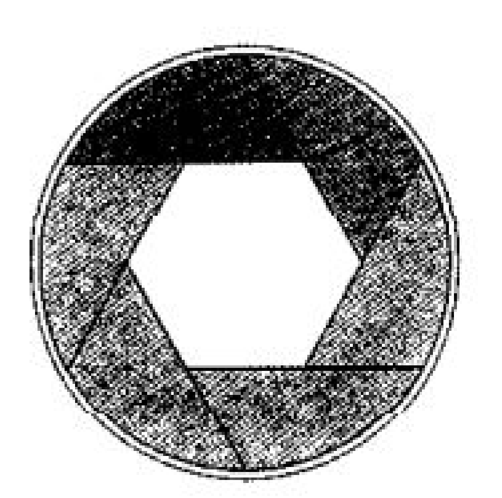
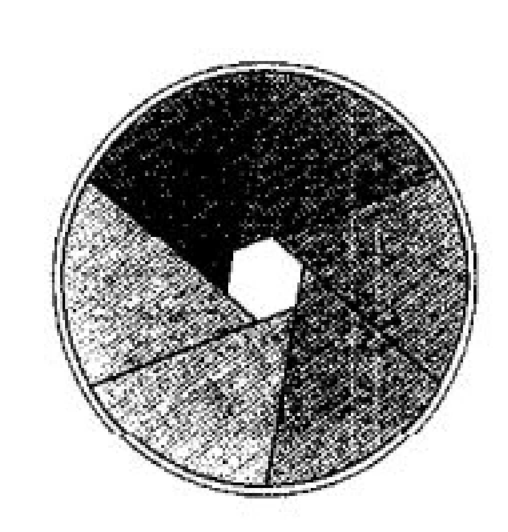
تجلب المكثفة (الشكل 8.3) الأشعة الضوئية إلى بؤرة مشتركة تقع على الشيء المفحوص وهي توضَع بين المرآة وبين رف المجهر.

ويمكن رفعها (للإضاءة القصوى) أو خفضها (للإضاءة الدنيا)، ولكن يجب أن تُمَرْكَز(أي تُجْعَل في المركز) وأن تُحكَم إحكاماً صحيحاً.

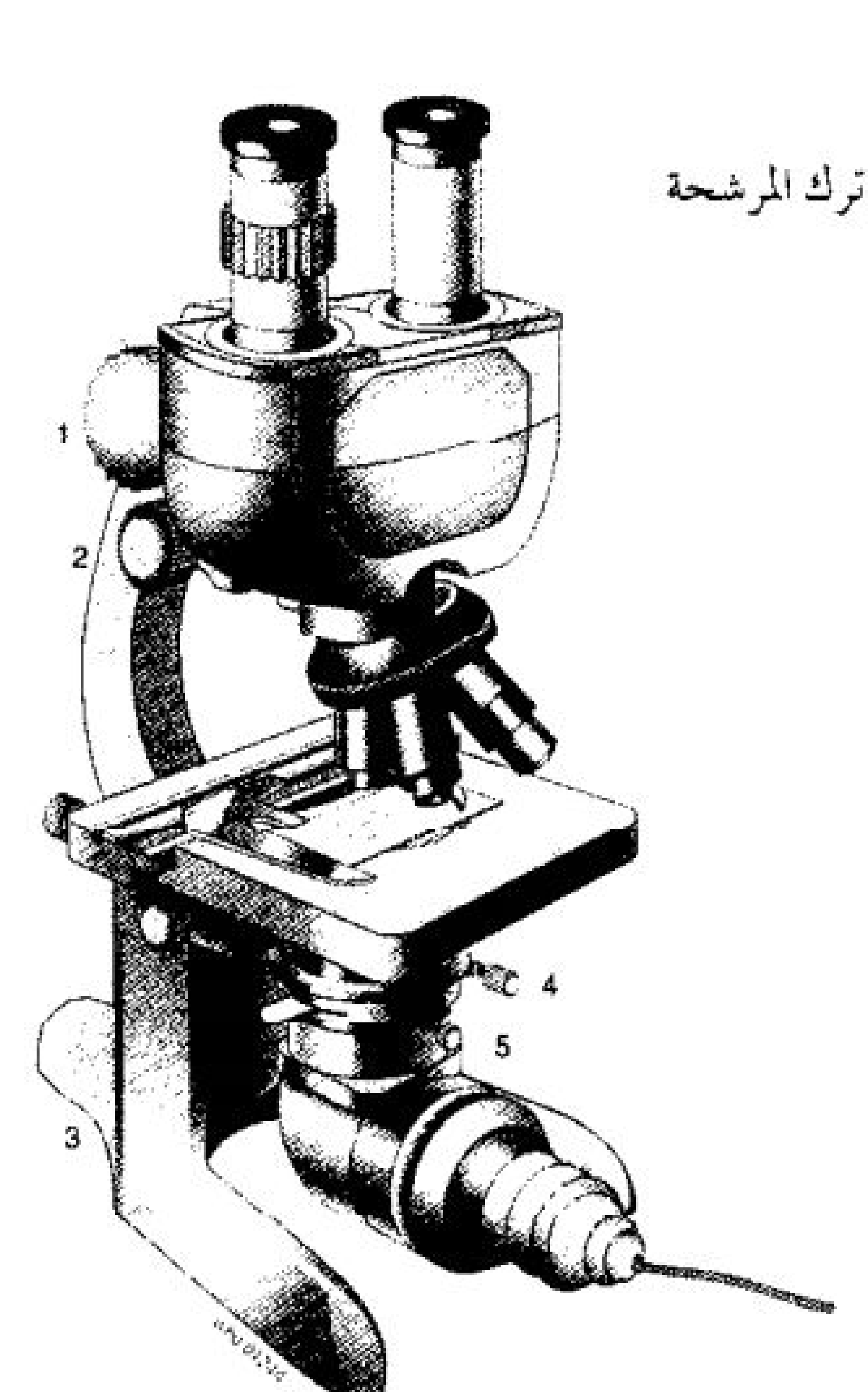
الحجاب Diaphragm

يُسْتَعْمَل الحجاب (الشكل 9.3) -الموجود في المكثفة- لإنقاص زاويتها أو زيادتها وبالتالي أيضاً إنقاص أو زيادة مقدار الضوء الذي يمر من المكثفة.

فكلما اتسع الحجاب زادت الفتحة العددية وأمكن رؤية تفاصيل أكثر صغراً، على أن التباين بين الأشياء المرئية وديباجتها (خلفيتها) يكون أقل.

الشكل 9.3. الحجاب.



الشكل 10.3. جملة إحكام المجهر.
1: لولب الإحكام الخشن؛
2: لولب الإحكام الدقيق؛
3: لولب إحكام المكثفة؛
4: لوالب مركزة المكثفة؛
5: عتلة الحجاب.

المراشح Filters

تُوجَد في بعض المجاهر مراشح ملونة (وخصوصاً باللون الأزرق) تُوضع تحت المكثفة، ويمكن ترك المرشحة في مكانها أو تنحيتها عنه تبعاً لنمط المحضر المفحوص بالمجهر.

جملة الإحكام adjustment system (الشكلان 10.3 و 11.3)

وتتألف هذه الجملة مما يلي:

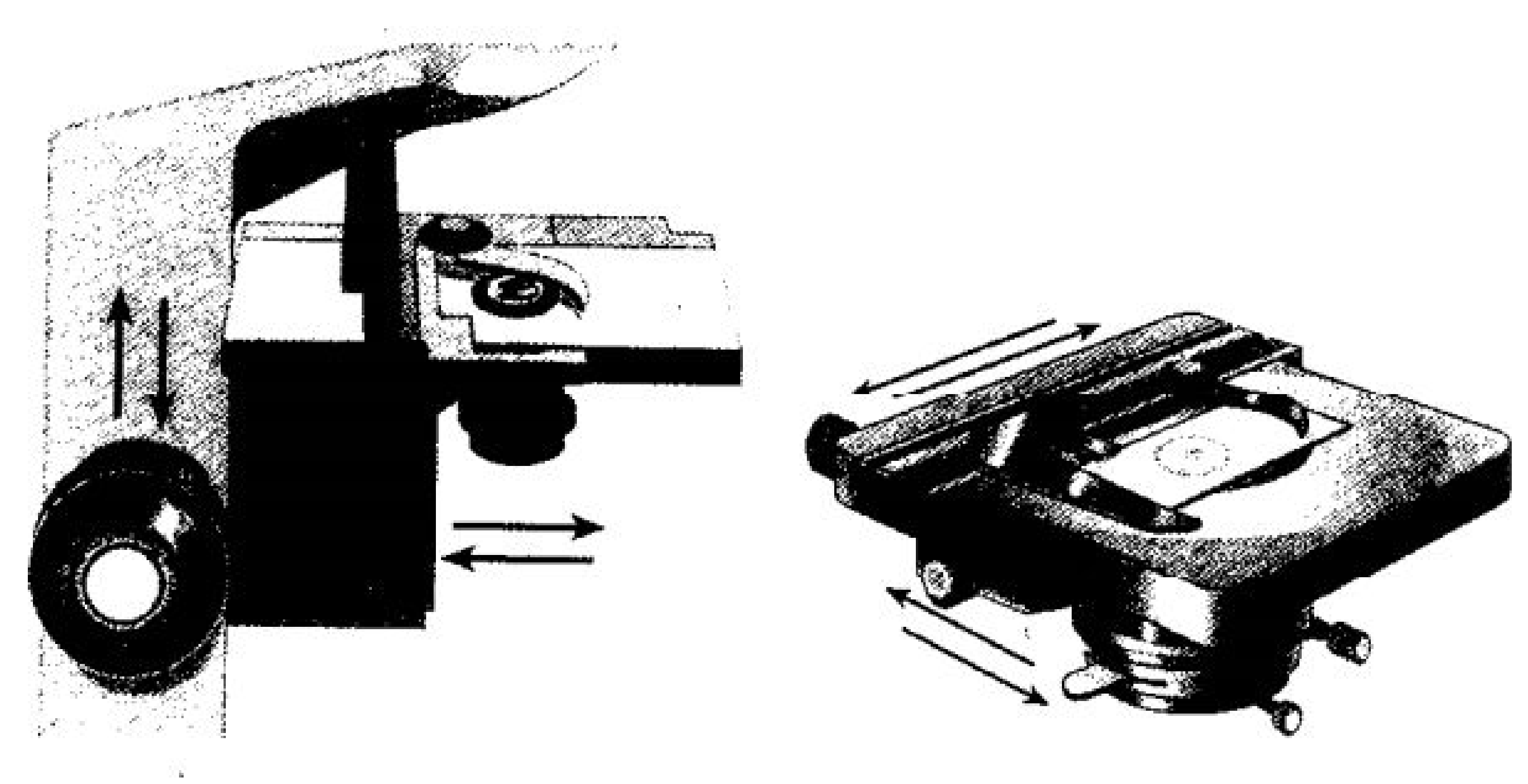
- لولب الإحكام الخشن (التقريبي).
- لولب الإحكام الدقيق.
- لولب إحكام المكثفة.
- لوالب مركزة المكثفة.
- عتلة الحجاب.
- لوالب الرف الميكانيكي (دراجة المجهر).

لولب الإحكام الخشن

وهو اللولب الأكبر، ويُستعمل في البدء للتوصل إلى بؤرة تقريبية (إحكام تقريبي).

لولب الإحكام الدقيق

وهو يحرك العدسة الشيئية ببطء أشد، ويُستعمل لوضع الشيء في بؤرة العدسة بالضبط.



الشكل 11.3. ضابطات الرف الميكانيكي.

لولب إحكام المكثفة

ويُستعمَل لرفع المكثفة للحصول على إضاءة أكثر أو خفضها للتقليل من الإضاءة.

لوالب مَرْكَزَة المكثفة

يمكن أن توجد ثلاثة لوالب تَحُفّ بالمكثفة: واحد في الأمام والثاني في الأيمن والثالث في الأيسر، وتُستعمَل من أجل مركزة المكثفة أي جعلها في المركز بالضبط نسبة إلى الشيئية.

عَتَلَة الحجاب

وهي عتلة صغيرة مثبتة على المكثفة، ويُمكِن تحريكها لإغلاق الحجاب أو فتحه، ومن ثم إنقاص أو زيادة كل من الزاوية وشدة الضوء.

ضابطات الرف الميكانيكي

وتستعمل لتحريك الشريحة الحاملة للشيء المفحوص على رف المجهر: لولب يحركها إلى الأمام أو الخلف، ولولب آخر يحركها إلى اليمين أو اليسار (الشكل 11.3).

2.1.3 إعداد المجهر

عندما يتم استلام مجهر جديد في المختبر، يهمنا أن نعرف كيف نعده بشكل صحيح

اختيار موضع للمجهر

يوضع المجهر على منضدة متينة مستوية (يُختَبَر استواؤها بميزان التسوية) بحجم كاف ولكنها غير عالية كثيراً؛ وإذا كنا سنستعمل الإضاءة الكهربائية فينبغي أن يوضع المجهر في الظل بعيداً عن النافذة؛ وتوضع وسادة مربعة من اللباد تحت المجهر، فإذا لم يوجد لباد تستعمل قطعة من القماش الثخين.

تركيب مصباح للمجهر

إذا كان للمجهر مرآة، فيمكن تركيب مصباح لتزويده بالضياء. تُؤخَذ وَقْبَة (سوكة) مصباح من الخزف أو البورسلين وتُثَبَّت على قاعدة خشبية، وتركَّب القاعدة في صندوق أو عُلبة من الخشب أو الصفيح، بعد عمل فتحة ينفذ منها الضياء (الشكل 12.3)، وتُعمل شقوق في سقف العلبة للسماح بتبريد المصباح.

أو يمكن وضع سَدِيْلَة على الفتحة تقوم بعمل مِصْراع (الشكل 13.3).
يُستعمل مصباح كهربائي ظليل 100 واط من نمط «ضوء النهار» (أزرق – أبيض).

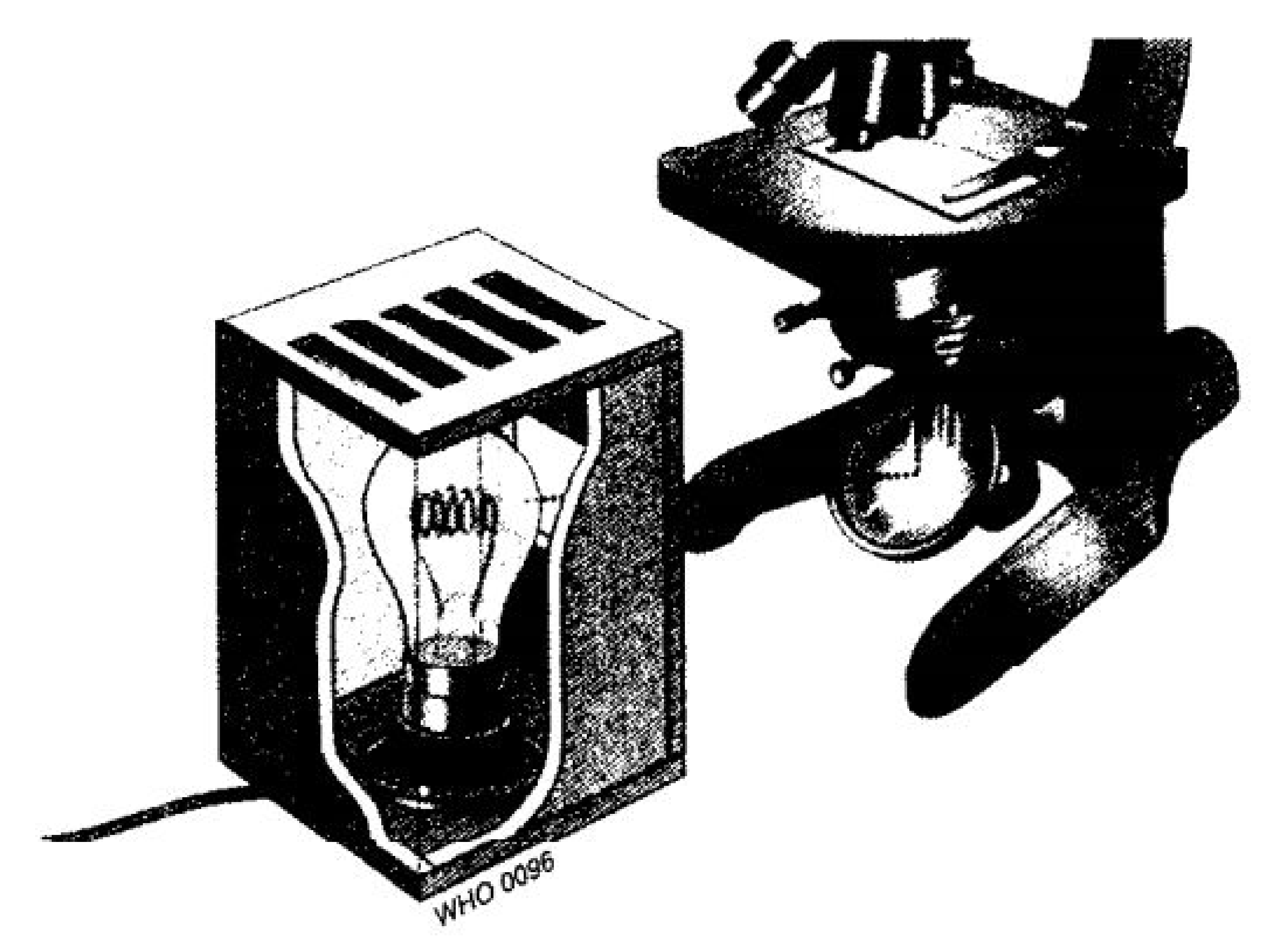
تركيب المُكَمِّلات

يتم تركيب الشيئيات بلَوْلَبَتِها في الأنْفية الدوّارة (بَدّالة الشيئيات)، وذلك بحسب الترتيب التالي باتجاه دوران عقارب الساعة:

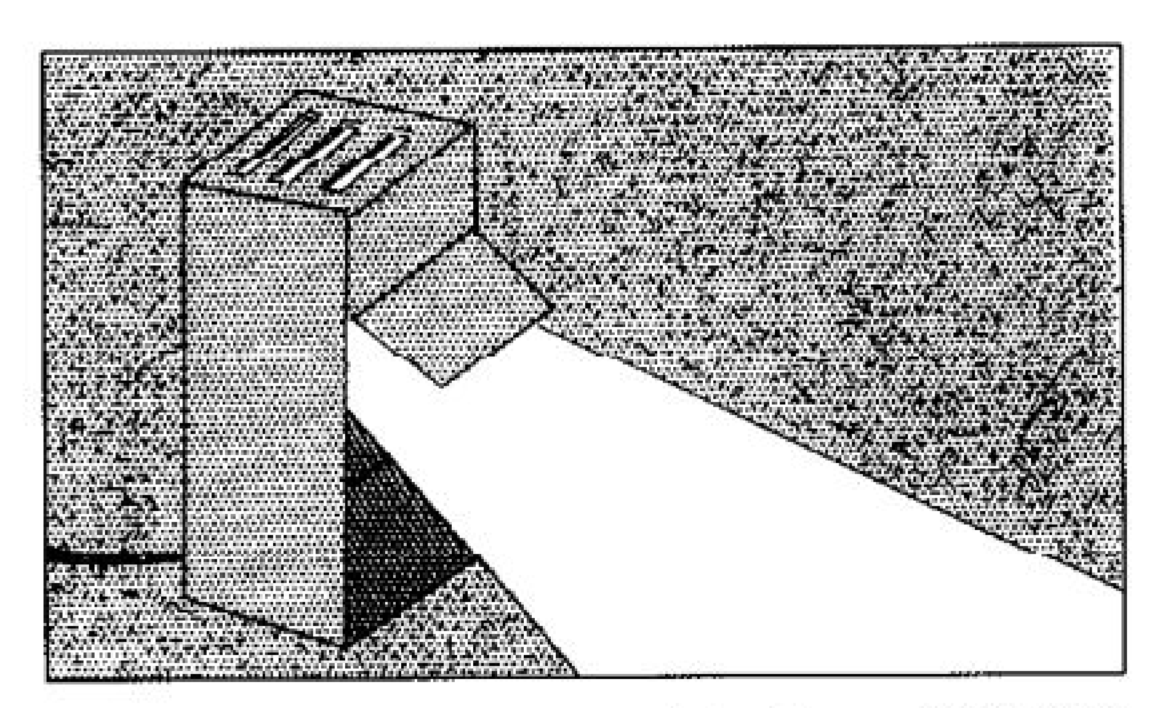
1. الشيئية 3× أو 5×؛ أو 10×؛
2. الشيئية 40×؛
3. الشيئية الغاطسة 100×.

علماً بأن تلافيف (أخاديد) اللولب معيارية. وبعد أن تتم لولبة الشيئيات:

- توضع العينية (أو العينيتان) في مكانها.
- تركب المكثفة تحت الرف.
- تثبت المرآة على قدم المجهر.



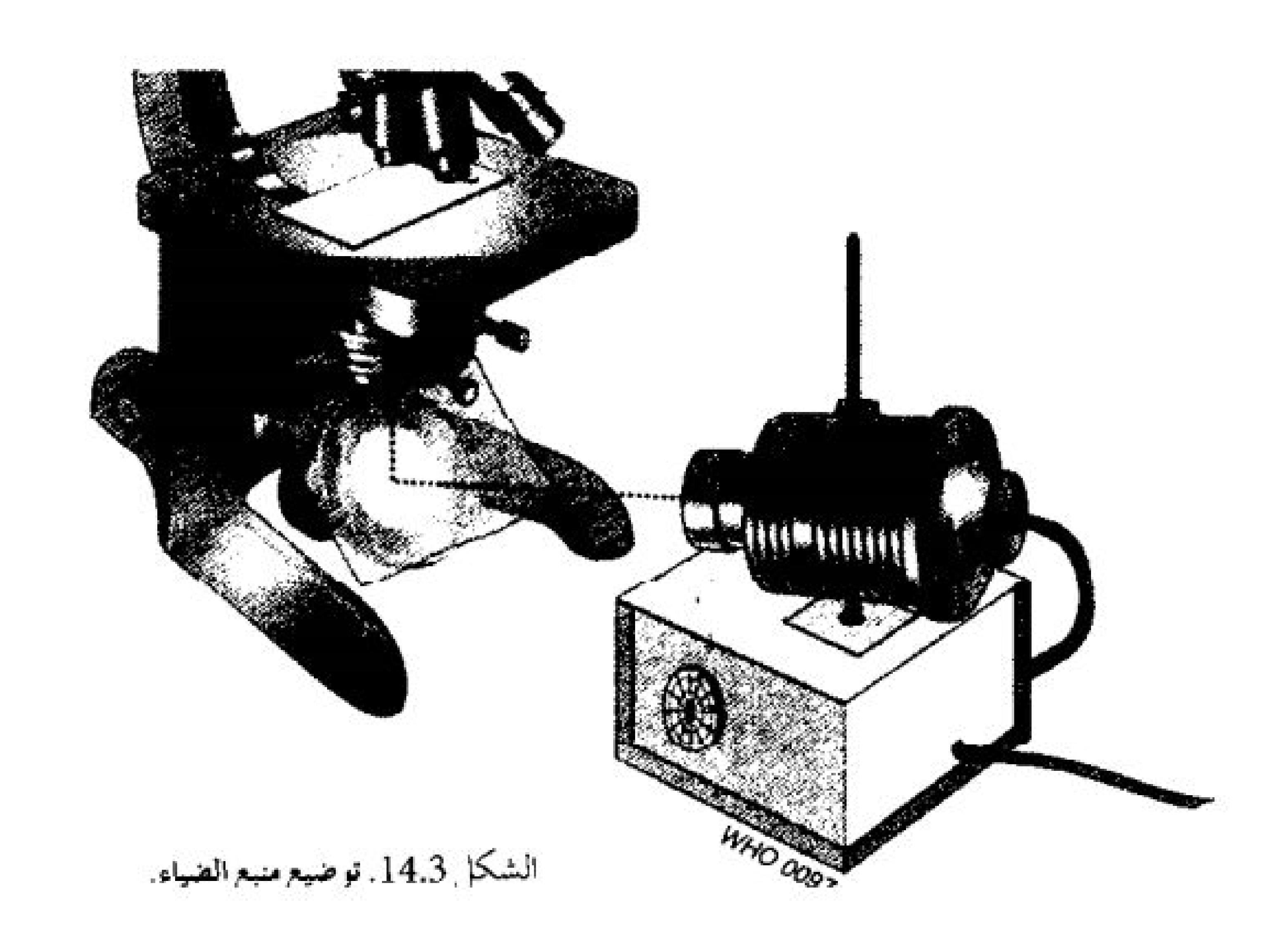
الشكل 12.3. تركيب مصباح للمجهر.



الشكل 13.3. منبع ضيائي بديل للمجهر.

توضيع المصباح

إذا كنت ستستعمل الإضاءة الكهربائية فضع المصباح أمام المجهر على بعد 20سم في مواجهة المرآة، وأحكم وضعية المصباح بحيث يشع ضياؤه على مركز المرآة (الشكل 14.3).



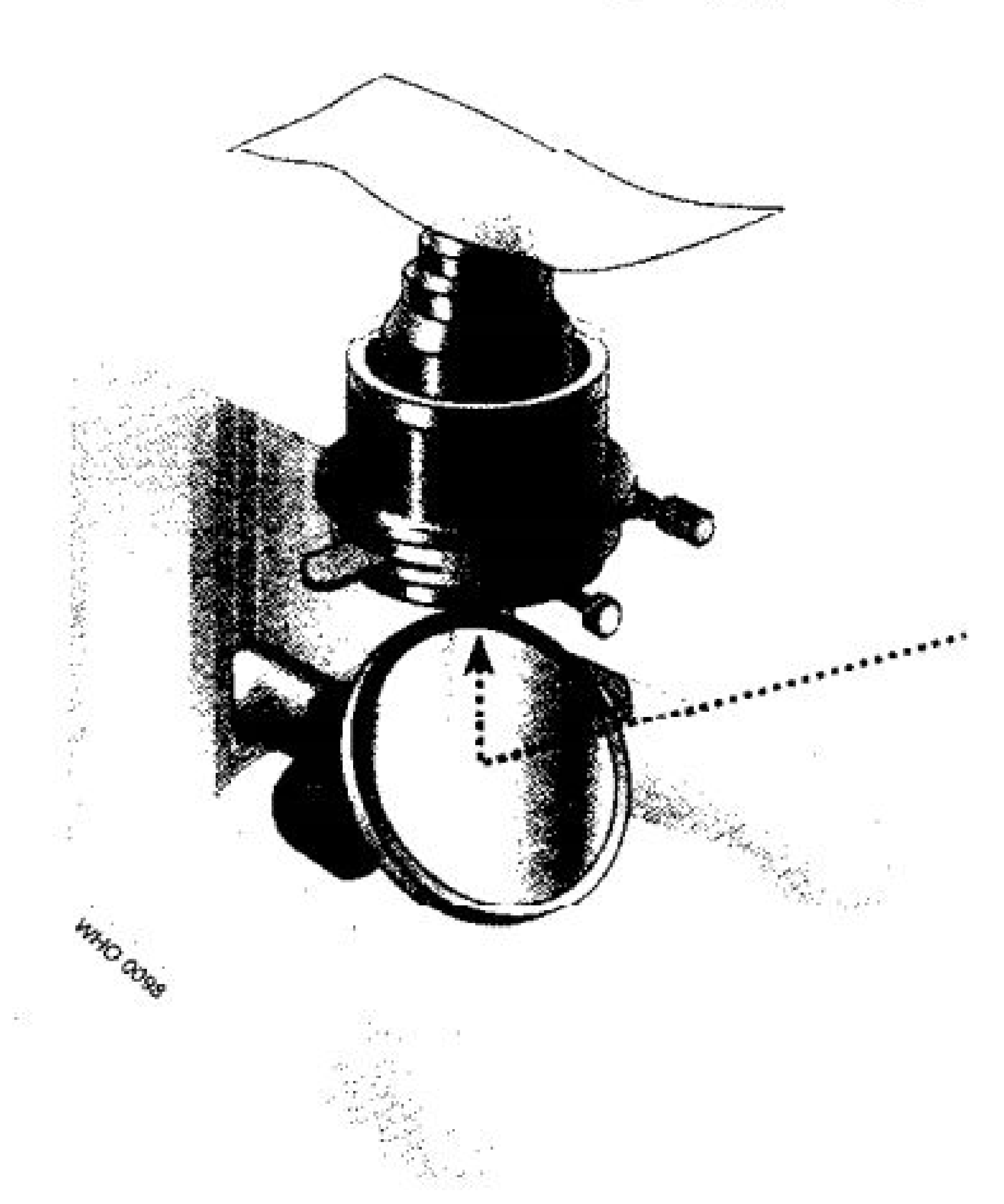
الشكل 14.3. توضيع منبع الضياء.

وإذا كان المصباح مزوداً بعدسة ينعكس خيال فتيل المصباح على ورقة مغطية للمرآة مما يسهل مركزة الحزمة الضوئية بدقة (مضبوطية) أكبر وفي بعض النماذج يمكن تدوير زجاجة المصباح حتى الحصول على خيال واضح للفتيل على الورقة.

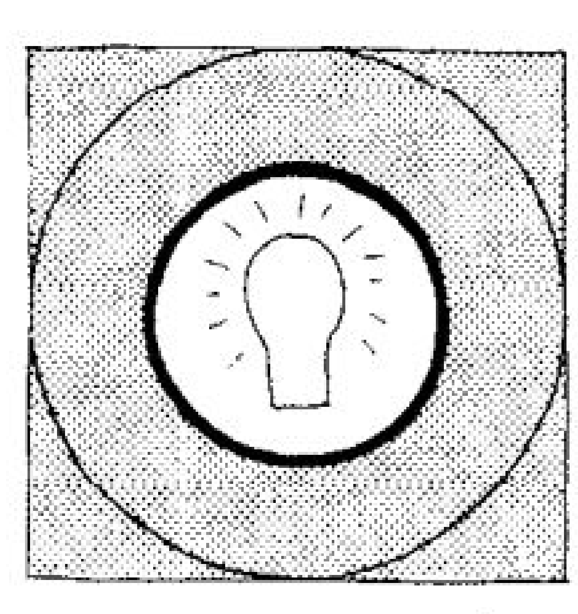
الإحكام التمهيدي للمرآة

يستعمل الوجه المستوي للمرآة، وتُنَحّى المراشح الملونة، ثم يفتح الحجاب إلى أقصاه وترفع المكثفة، ثم توضع قطعة من الورق الأبيض الرقيق على العدسة الموجودة في قمة المكثفة (الشكل 15.3).

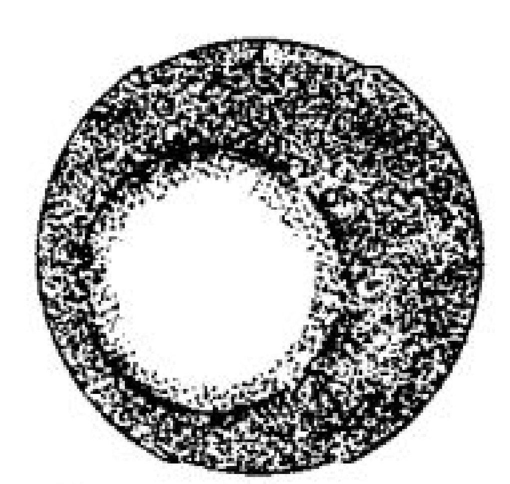
يُرى على هذه الورقة خيال المصباح الكهربائي محاطاً بهالة من الضياء، فيتم إحكام المرآة بحيث يستقر خيال المصباح في مركز هالة الضياء بالضبط (الشكل16.3). وإذا استعمل ضوء النهار فيتم إحكام المرآة بحيث يمر أقصى ما يمكن من الضوء عبر المكثفة.



الشكل 15.3. إحكام المرآة.



الشكل 16.3. خيال منبع الضياء كما يرى من خلال المكثفة.

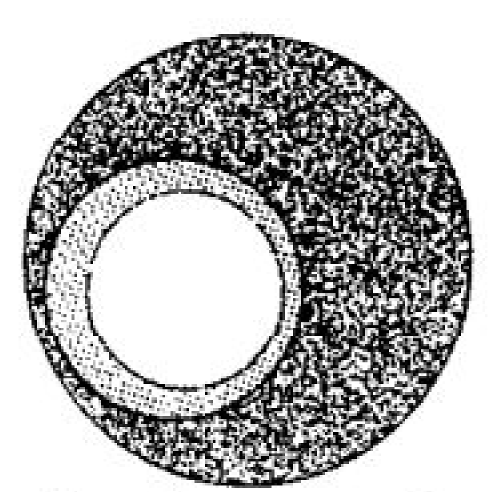


الشكل 17.3. لمَرْكَزَة المكثفة يُغلَق الحجاب في البدء.

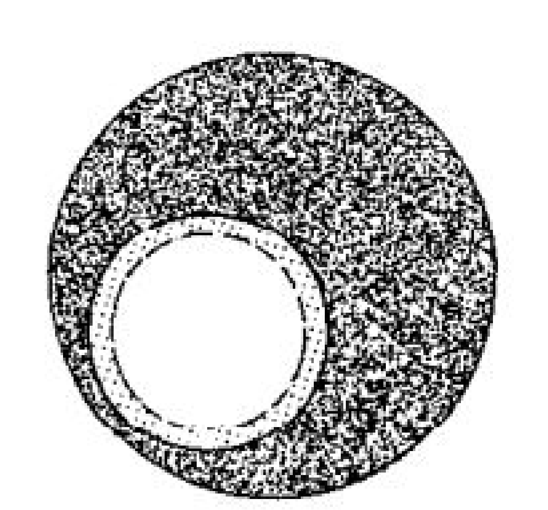
مَرْكَزَة المكثفة (إذا أمكن التحكم به)

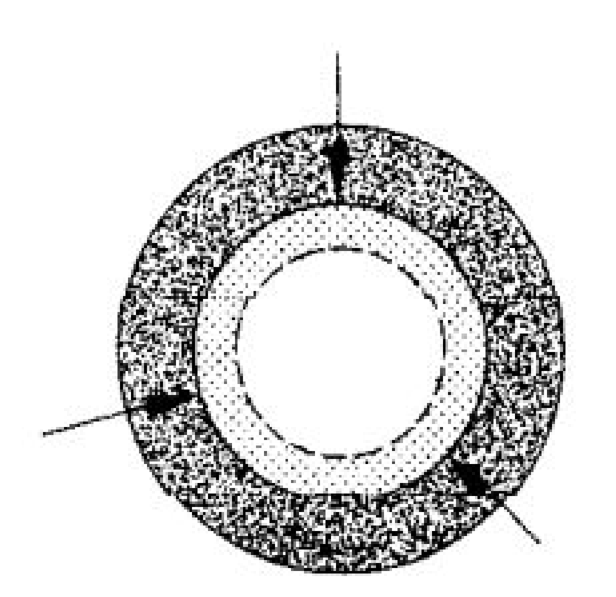
من الضروري مركزة المكثفة مركزةً صحيحة، وكثيراً ما نغفل ذلك.

1. توضع شريحة محضر مجهري دون ساترة على رف المجهر، وتُخْفَض المكثفة، ويفتح الحجاب، وتفحص الشريحة بالشيئية الأخفض تكبيراً (3×أو 5×أو 10×)، ثم ينظر من خلال العينية لإحكام الرؤية.
2. يُغْلَق الحجاب فتبدو دائرة غائمة من الضياء محاطة بهالة مظلمة في الساحة (الشكل 17.3).
3. تُرْفَع المكثفة شيئاً فشيئاً إلى أن تتضح حوافي الدائرة الضيائية (الشكل 18.3).
4. يتم إحكام وضعية المراة (إذا لزم) بحيث تكون دائرة الضياء في مركز الباحة النَيِّرَة المحاطة بالمنطقة المظلمة أو متطابقة معها (الشكل 19.3).
5. تستعمل لوالب المَرْكَزَة في المكثفة للإحكام بحيث تصبح دائرة الضياء في مركز الساحة تماماً (الشكل 20.3). ثم تعاد العملية للشيئيات الأخرى أيضاً.



الشكل 18.3. ترفع المكثفة إلى أن تكون حواف الدائرة الضيائية في البؤرة.


الشكل 19.3. تَمَرْكُز الضوء بإحكام وضعية المرآة.


الشكل 20.3. تَمَرْكُز الضوء باستعمال لوالب مركزة المكثفة.

إحكام الحجاب

يفتح الحجاب بأكمله وتُنَحَّى العينية وينظر داخل الأنبوب فتُرى العدسة العليا من عدسات الشيئية مملوءة بدائرة مضيئة، ثم يُغلق الحجاب ببطء شيئاً فشيئاً حتى تقتصر الدائرة المضيئة على ثلثي سطح العدسة (الشكل 21.3)؛ ثم يكرر الأمر مع الشيئيات الأخرى.

إحكام العينيات

اختيار العينية

تعطي العينية 5× أو 10× نتائج جيدة في المختبر الطبي، أما العينيات الأعلى تكبيراً فإنها تزيد التكبير ولكن دون زيادة كبيرة في التفاصيل. على أن اختيار العينية أمر متروك للفاحص.

إحكام المسافة بين العينيتين

يمكن في المجاهر ذات العينيتين إحكام المسافة بين حَدَقَتَيْ عَيْنَي الفاحص بحسب ما يلائمه.

مُبَاءَرَة العين اليمنى والعين اليسرى

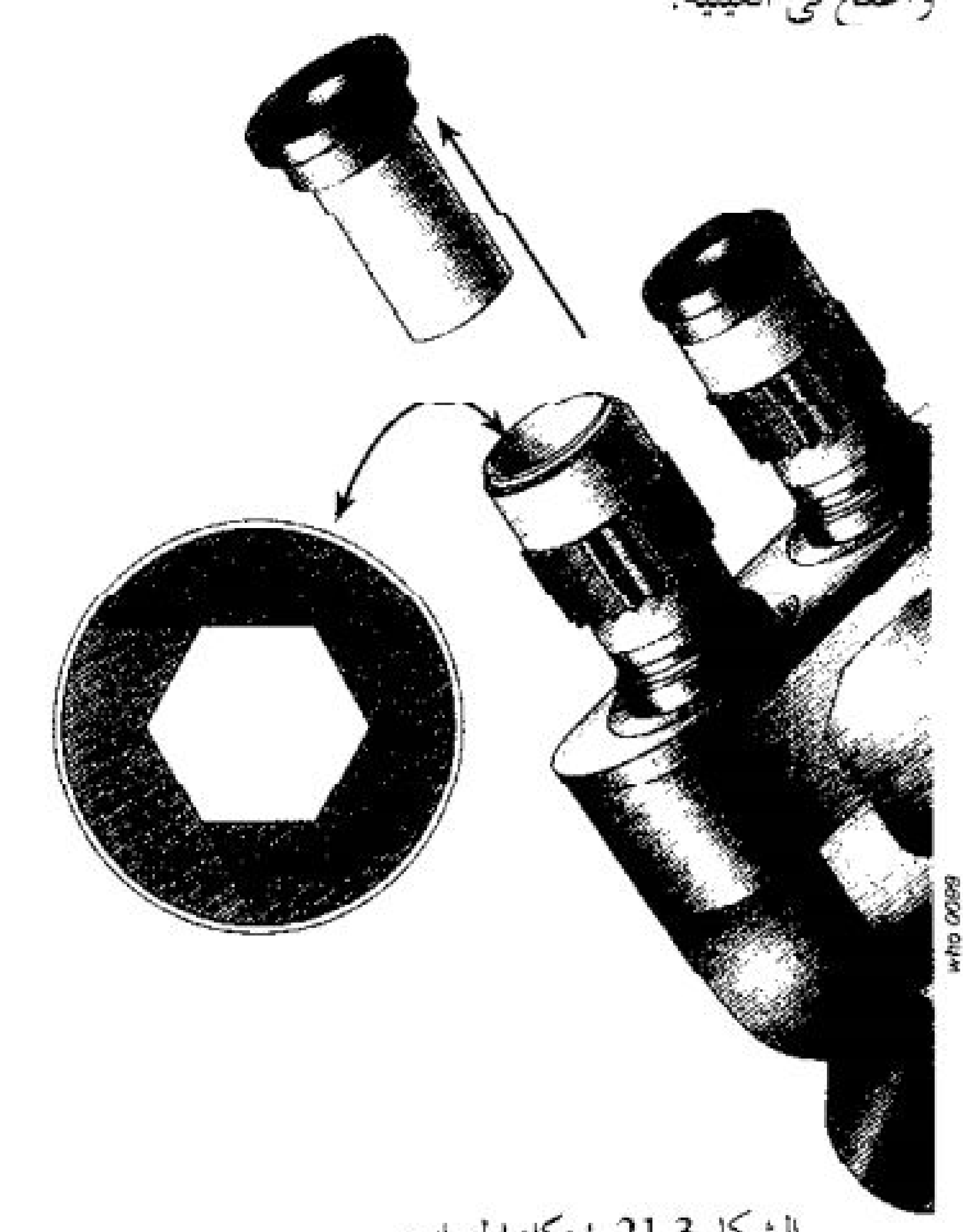
يكون لأحد حامِلَي العينيتين (حامل اليسرى عادةً) طَوْقٌ للتبئير (الشكل 22.3). فإذا كان الطوق على حامل العينية اليسرى تغلق العين اليسرى، وباستعمال الشيئية 40× يُجلَب الخيال إلى البؤرة بالنسبة للعين اليمنى بواسطة العينية اليمنى.

ثم تغلق العين اليمنى وتفتح اليسرى وينظر من خلال العينية اليسرى فإذا كان الخيال في البؤرة فلا داعي لإعادة الإحكام، أما إذا كان الخيال غير واضح فينبغي تدوير طوق الإحكام حتى يصير الخيال في البؤرة. وعندئذ يصبح المجهر مُحْكَماً وجاهزاً للفحص مما يوافق رؤية الفاحص بالعينيتين.

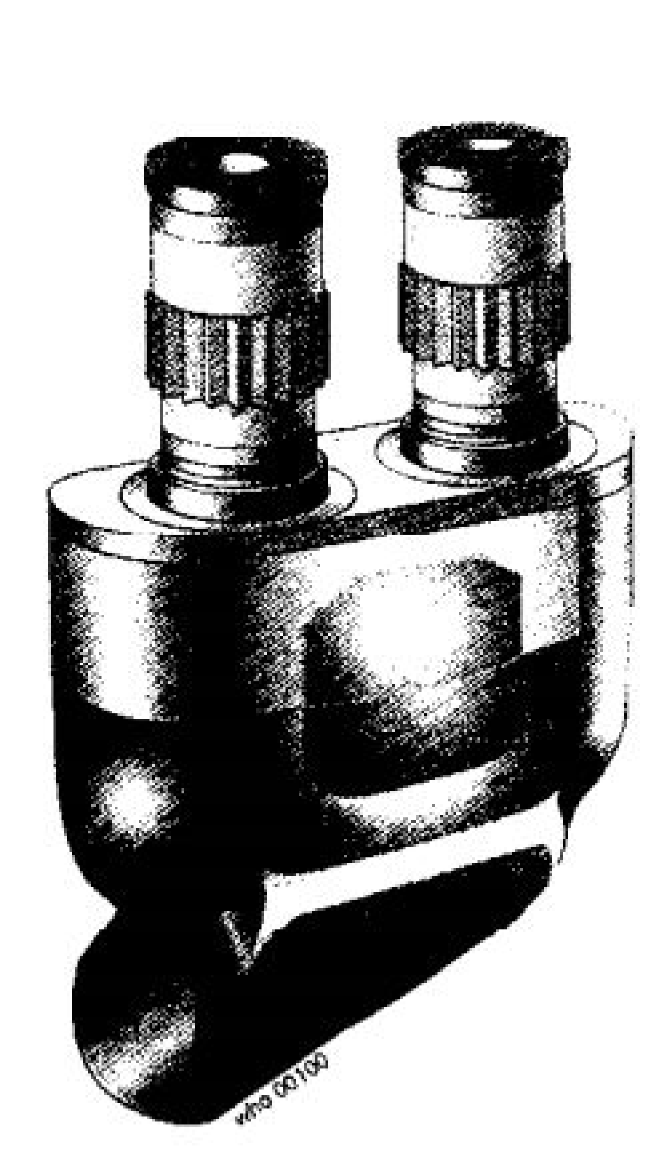
3.1.3 مُباءَرة الشيء المفحوص

الشيئية الضعيفة التكبير (×10)

تُخفض المكثفة إلى أدنى ما يمكن، وتخفض الشيئية حتى تكون فوق شريحة المحضر مباشرة وعين الفاحص ناظرةٌ إليها. ينظر الفاحص الآن في العينية وهو يرفع الشيئية باستعمال لولب الإحكام الغليظ حتى يُرى خيال واضح في العينية.



الشكل 21.3. إحكام الحجاب.



الشكل 22.3. مباءرة العينيتين.

في بعض الأحيان لا يمكن الحصول على خيال واضح على الرغم من خفض الشيئية إلى أدنى ما يمكن، والسبب أن لولب الإحكام الدقيق قد سبق تدويره إلى نهايته، ولذلك يُدَوَّر هذا اللولب أبعد ما يمكن بالاتجاه المعاكس ثم تجرى المباءرة برفع الشيئية. تُرْفَع المكثفة إلى الأعلى قليلاً إذا كانت الإنارة غير كافية.

الشيئية القوية التكبير (×40)

تُخفض المكثفة إلى منتصف المسافة، وتُخفض الشيئية حتى تكون فوق شريحة المحضر مباشرة وتكاد تلامسه (المسافة التشغيلية قصيرة جداً حوالي 0.5 مم) وعينُ الفاحص ناظرةٌ إليها. تُرفَع الشيئية ببطء شديد باستعمال لولب الإحكام الغليظ حتى يظهر خيال غائم في الساحة. تُستكمَل المباءرة باستعمال لولب الإحكام الدقيق، وترفع المكثفة للحصول على إضاءة كافية. إذا لم يكن للمجهر مكثفة يستعمل الوجه المقعر لمرآة المجهر.

الشيئية الغاطسة في الزيت (×100)

يجب استعمال محضرات ملونة مجففة جيداً. تُوضَع قطرة صغيرة من الزيت على الجزء المراد فحصه (ويفضل استعمال الزيوت التخليقية التي لا تجف على استعمال زيت الأرز الذي يَنْشَف بسرعة). وتُرفَع المكثفة إلى أعلى ما يمكن ويُفْتَح حجابها بأكمله، ثم تُخفض الشيئية الغاطسة (×100) حتى تغطس في الزيت ومن ثم تُقرَّب أكثر ما يمكن من الشريحة ولكن دون الضغط على المحضر (ولو أن الشيئيات الغاطسة الحديثة مزودة برَفَّاس). ويُجرى كل ذلك وعين الفاحص تنظر إلى الغاطسة. ينظر الفاحص الآن في العينية ويُدَوِّر لولب الإحكام الدقيق ببطء شديد نحو الأعلى حتى يظهر الخيال في البؤرة بوضوح. وإذا كانت الإضاءة غير كافية يُستَعمل الوجه المقعر من مرآة المجهر كما أُسلفنا في الشيئية ×40.

ملاحظة هامة: في معظم المجاهر الحديثة لا يتحرك حامل الشيئيات وإنما رف المجهر هو الذي يتحرك للأعلى والأسفل بواسطة لوالب الإحكام الغليظة والدقيقة لإيصال الخيال إلى البؤرة.

عُمْق الساحة المجهرية

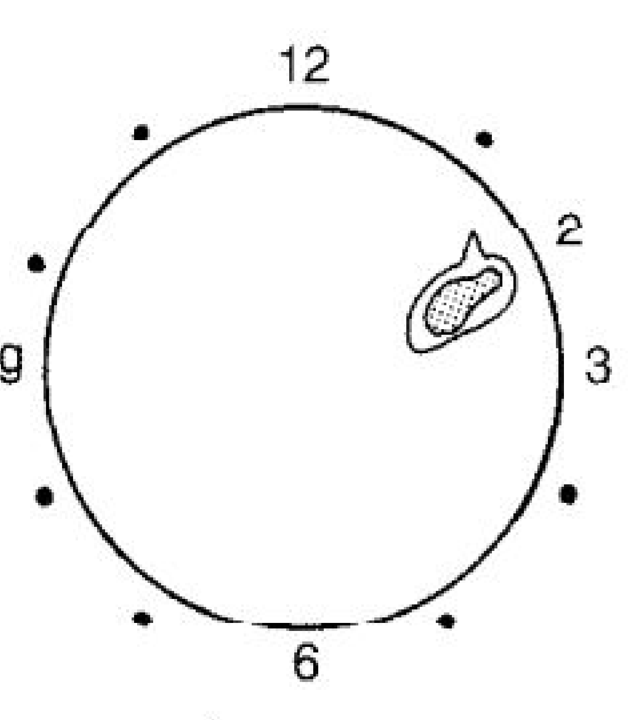
يُشَاهد الخيال بكل أعماقه عند استعمال الشيئية المنخفضة التكبير. على أن عمق المساحة المرئية بوضوح يتناقص عند استعمال الشيئيات العالية التكبير(×40، ×100)، وينبغي لذلك استعمال لولب الإحكام الدقيق لرؤية كل التفاصيل من القمة إلى القاع في مختلف مستويات بؤرة الشيء المفحوص(مثلاً: مختلف النوى في كيسة الأميبة الكروية).

الخيالات المرئية تحت المجهر

يُطْلَق على الدائرة المضيئة التي ترى بالنظر في عينية المجهر اسم «الساحة المجهرية».

كيف نعين مواقع الأشياء المرئية؟

يمكن تعيين مواقع الأشياء المرئية في الساحة بأن ننسبها إلى عقارب الساعة، فهناك مثلاً بيضة من بيوض البِلْهارْسِيَّات تقع عند الساعة الثانية في الشكل 23.3.



الشكل 23.3. تعين مواقع الأخيلة المرئية في المجهر.

انقلاب الأخيلة

إن الخيال الذي نراه يكون مقلوبا من قِبل العدسات:

- فالأشياء التي ترى في أسفل الساحة هي في الحقيقة في أعلاها.
- والأشياء التي ترى في أيسر الساحة هي في الواقع في أيمنها.

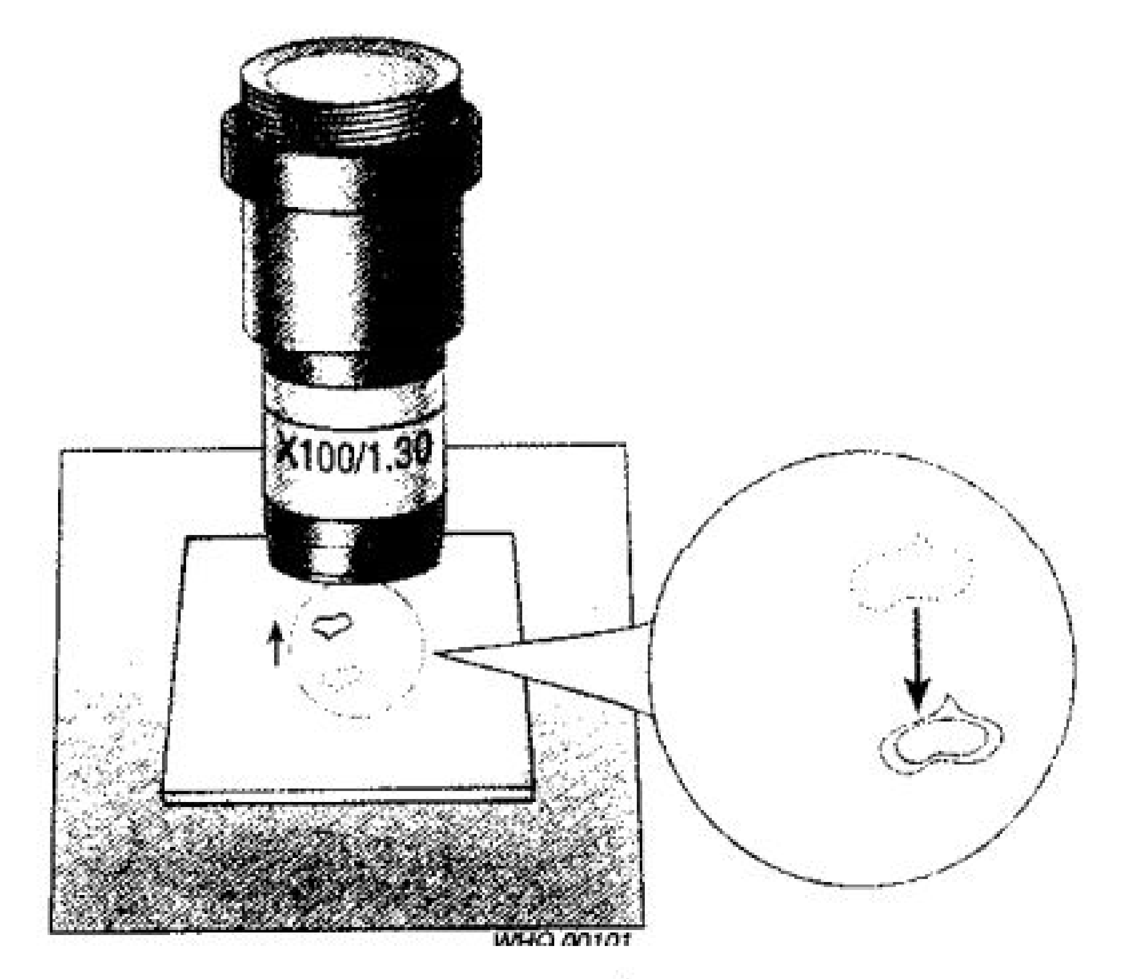
تحريك الشيء المفحوص

عندما نحرك الشريحة في اتجاه ما يتحرك الشيء المفحوص إلى الاتجاه المعاكس (الشكل 24.3).

تبديل الشيئيات

تصنع المجاهر الحديثة بحيث أنه إذا بَدَّلْنا من الشيئية المنخفضة التكبير إلى الشيئية العالية التكبير لفحص الشيء ذاته فإن الشيء المفحوص يبقى في البؤرة تقريباً دونما حاجة إلى إحكام جديد. فإذا لم يكن مجهرنا من هذا النوع، نرفع بَدَّالة الشيئيات قبل التبديل إلى الشيئية الأعلى تكبيراً ثم نُبائِر من جديد.

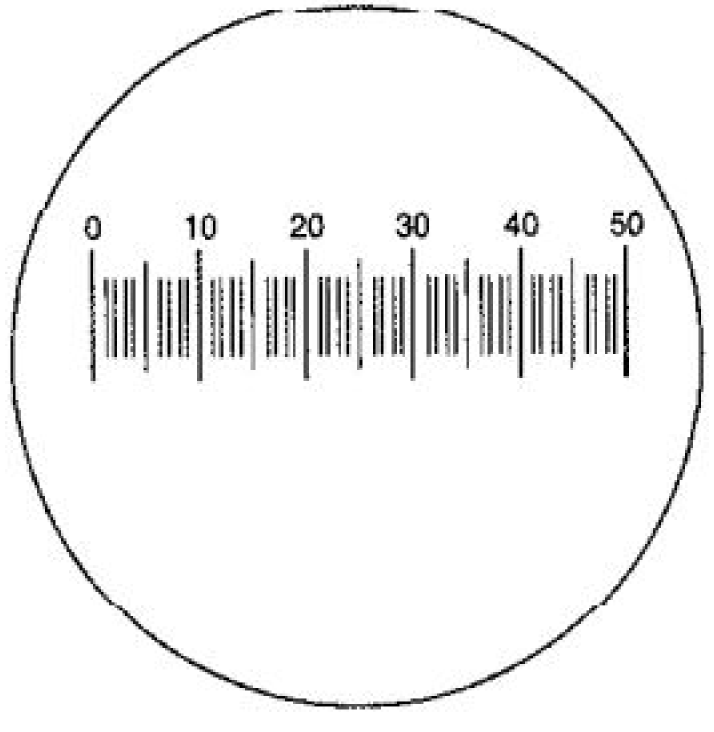
ولنتأكدْ قبل إجراء تبديل الشيئية من أن الشيء المفحوص في وسط الساحة، وبذلك لا يضيع منا عند التبديل.



الشكل 24.3. تحريك الشيء المفحوص.

4.1.3 استخدام المقياس المكروي للعينة

إن حجم الأحياء أو بنياتها التحتية يمكن قياسه بعينية مزودة بطبق مكروي معير. وهذا الطبق المكروي مدرج وعادة مقسم إلى تحت أقسام مقدارها 0.1 مل و 0.01 مل (الشكل 25.3). يستخدم رف مقياس مكروي لمعايرة المقياس المكروي للعينية.



الشكل 25.3. طبق المقياس الدقيق البصري

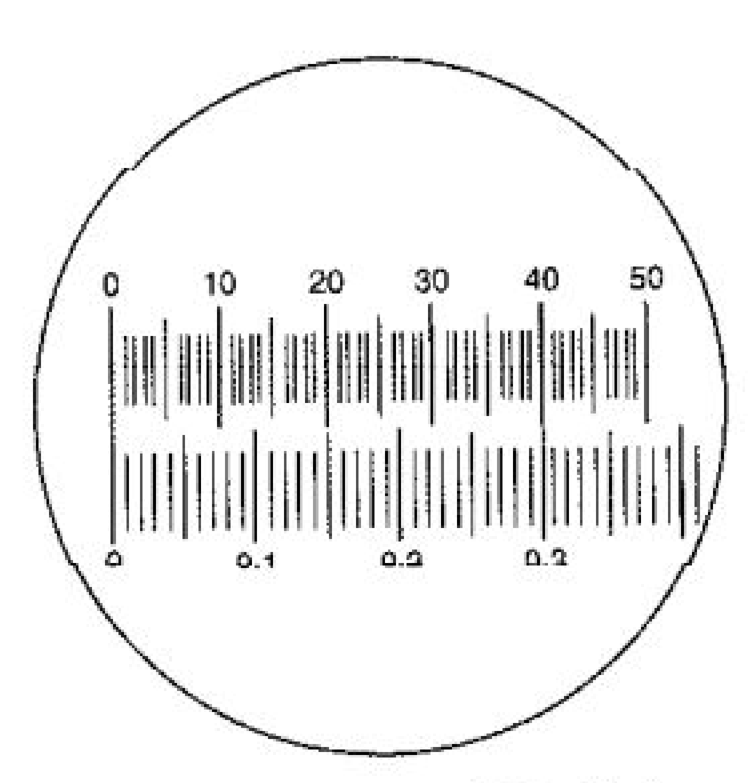
المواد

- مجهر ثنائي العينيات
- عينية بتكبير x10
- قرص مقياس مكروي عيني
- رف مقياس مكروي
- ورق عدسات
- زيت غطس

الطريقة

1. يفك لولب عدسة العينية.
2. يوضع المقياس المكروي والوجه المفرض المدرج في العينية إلى الأسفل للعينية. يستخدم ورق عدسات لمسك الطبق.
3. توضع العدسة بعناية .
4. توضع العينية ذات المقياس المكروي في أنبوب العينية للمجهر.
5. يوضع رف المقياس المكروي المعاير على رف المجهر ويباءر على السلم. ويجب توفر القدرة على التفريق بوضوح بين تقسيمات 0.1 مل و 0.01 مل .
6. ينضبط رف المقياس المكروي حتى يتطابق خط 0 م مع خطر 0 م من المقياس المكروي للعينية.
7. يبحث عن خطوط أخرى تتطابق فيها تدريجات رف المقياس المكروي مع تدريجات المقياس المكروي العيني. هذه الخطوط يجب أن تكون بعيدة عن خط 0 م قدر المستطاع (الشكل 26.3). إن المسافة بين مجموعتي الخطوط تختلف حسب تكبيرشيئية المجهر.
8. يجرى عد مقدار تحت التفسيمات 0.1 م من رف المقياس المكروي بين خط 0 والمجموعة الأخرى المتطابقة من الخطوط.
9. يجرى عد مقدار تحت التقسيمات 0.1 م للمقياس المكروي العينية بين خط 0 والمجموعة الأخرى المتطابقة من الخطوط.
10. تحسب نسبة المليمتر المقاس بوحدة عينية باستخدام المعادلة التالية

$$\text{وحدات العينية (مكم)} = \frac{\text{قراءة الرف (م) } \times 1000 \text{ مكم}}{\text{قراءة العينية } 1 \times \text{ م}}$$



الشكل 26.3. موازنة المقياس الدقيق البصري برف المقياس الدقيق.

مثال : لمجهر مزود بشيئية 40x يتم الحساب كما يلي

$$\frac{0.1 \text{ مم } \times 1000 \text{ مكم}}{50 \text{ وحدة } \times 1 \text{ مم}} = 2 \text{ مكم}$$

ملاحظة هامة : إن الشيئيات المتعلقة يجب ألا تستبدل بشيئية معايرة بل تعاير بشكل منفصل. إن العينية الحاوية على طبق المقياس المكروي، تحفظ لحين اللزوم. كل مجهر يستخدم لقياس حجم الأحياء يجب أن يعاير على حدة.

5.1.3 مجهر الساحة المظلمة

للحصول على ساحة مظلمة تستعمل مكثفة خاصة ذات مركز مظلم (مُسْوَدّ) المحيط، وإذا لم يتوافر ذلك فمن الممكن الحصول على ساحة مظلمة تحت الشيئيات 10× و 40× بإدخال قرص أو مُوْقِف في حامل المراشح تحت المكثفة .

يمكن أن يُصْنَع المُوْقِف من مادة لا يستطيع الضوء أن يمر عبرها ويجب أن يكون بحجم مناسب للشيئية المستعملة. وإذا كان المُوْقِف صغيراً جداً فسيمر الكثير جداً من الضوء في الشيئية ولن يتم الحصول على ساحة مظلمة، أما إذا كان المُوْقِف كبيراً جداً فسيتوافر ضوء غير كافٍ لإضاءة النموذج.

6.1.3 الصيانة الروتينية

يجب وضع المجهر في بيئة نظيفة بعيدة عن الكيماويات.

يجب أن يكون مكان العمل مُهَوًّى جيداً أو مكيف الهواء بشكل دائم (يُنْتِج الاستعمال المتقطع لمكيفات الهواء ماءً مكثفاً)، إذ تُسَهِّل الرطوبة والحرارة المرتفعة نموَّ الفُطْرِيّات الذي يمكن أن يسبب تآكل السطوح البصرية. ويجب ألا تحفظ الأدوات البصرية لفترات طويلة في أحياز مغلقة إذ أن هذه الحالات تسهل أيضاً نمو الفطريات.

يحتاج المجهر إلى عناية يومية للمحافظة عليه في حالة جيدة شغالة وبالتالي ضمان نتائج مختبرية مَعوّل عليها، وينبغي اتخاذ احتياطات خاصة في الأقاليم الحارة والرطبة.

تنظيف المجهر

تستعمل المجاهر لاستقصاء النسج والسوائل البيولوجية ويجب لذلك إزالة تلوثها بفترات منتظمة.

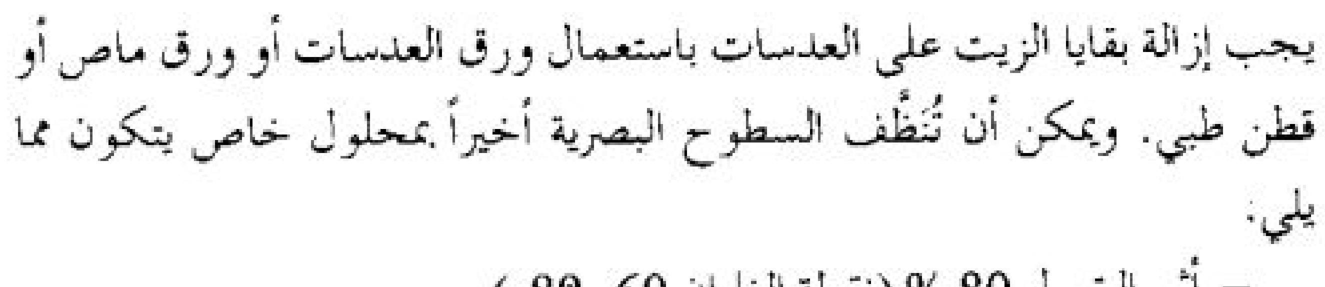
المواد

- قطع نظيفة من القماش القديم ومناديل الكتان الرقيق التي سبق غسلها.
- ورق خاص لمسح العدسات، فإن لم يتوافر فَوَرَق أبيض ماص أو القطن الطبي.
- قطعة من جلد الشَّمْوَة إن أمكن (وإلا فخرقة لا زَغَب لها).
- قارورة صغيرة من محلول منظف.
- غطاء من البلاستيك (البلاستيك).
- بصلة مطاطية صغيرة، وإن أمكن فرشاة ناعمة من شعر الجمل (أو فرشاة رسم ناعمة أو فرشاة ناعمة ملساء لتنظيف العدسات).
- مُجَفِّفَة قطرها 15–20 سم تحوي ما لا يقل عن 250 غ من هُلامَة السيليكا الزرقاء الجافة (التي تدل على الرطوبة بأن تصبح وردية اللون).

الطريقة

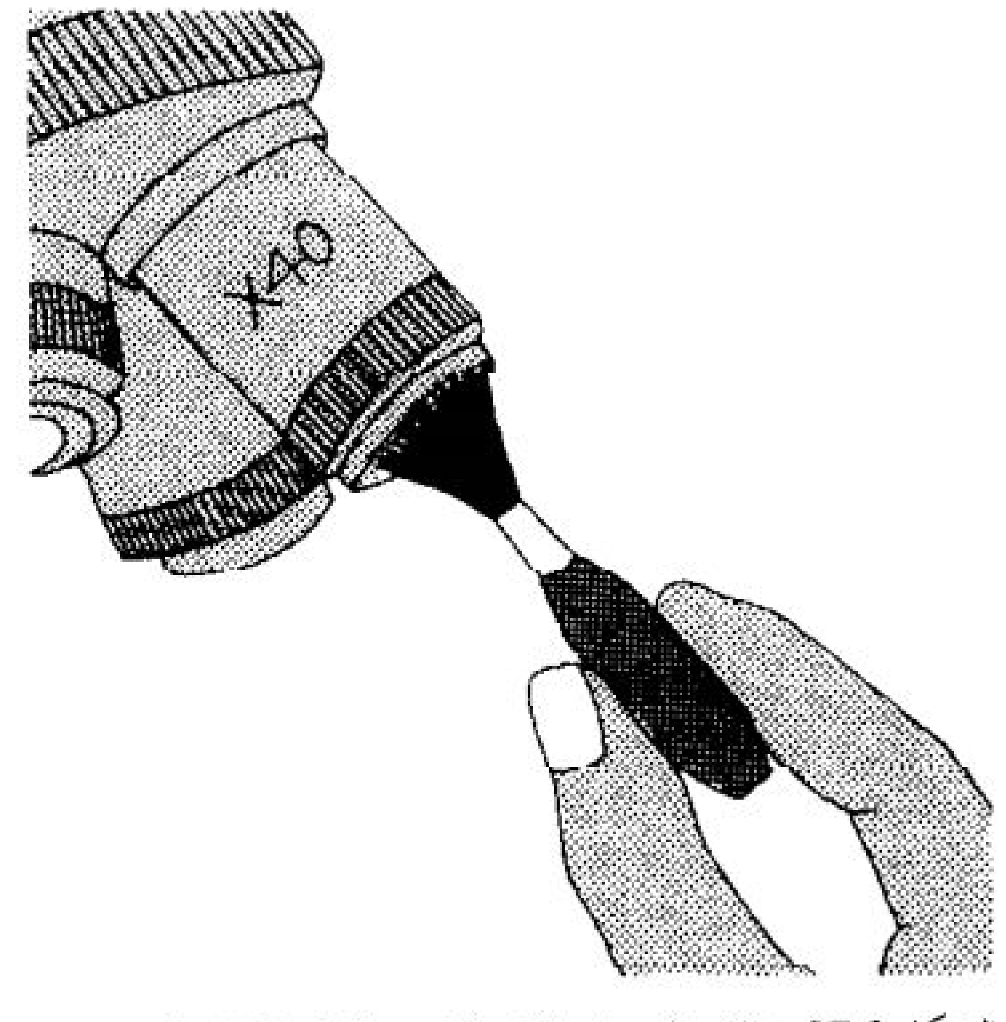
تنظيف السطوح البصرية

يجب أن تحفظ السطوح البصرية (المكثفة، الشيئيات، العينيات) خاليةً من الغبار باستعمال فرشاة ناعمة (الشكل 27.3) أو نَفّاخ blower . وإذا وجد غبار داخل العينية، تُفكّ العدسة العليا ويُنَظَّف الباطن باستعمال نفاخ أو فرشاة ناعمة.


يجب إزالة بقايا الزيت على العدسات باستعمال ورق العدسات أو ورق ماص أو قطن طبي. ويمكن أن تُنظَّف السطوح البصرية أخيراً بمحلول خاص يتكون مما يلي:

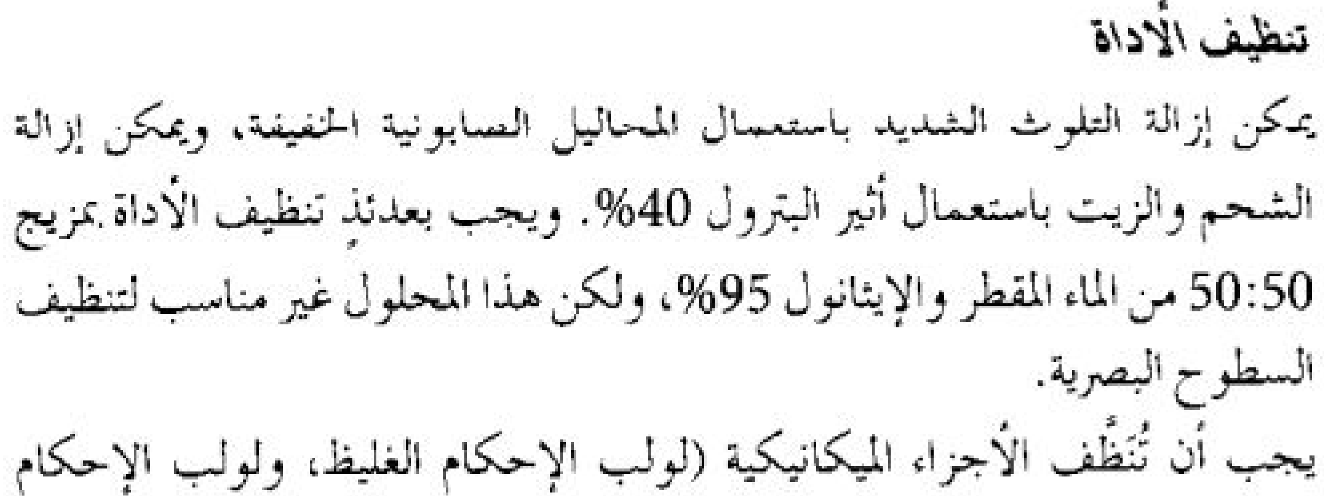
- أثير البترول 80 % (نقطة الغليان 60–80م)
- 2بروبانول 20%.

ملاحظة: لا تستعملْ الإيثانول 95% أو الكزيلول أو التولوين لتنظيف العدسات إذ أنه يحل المِلاط، بيدَ أنه يمكن استعمالها لتنظيف المرآة.

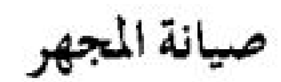


الشكل 27.3. تنظيف العدسات الشيئية باستعمال فرشاة ناعمة من شعر الجمل.

تنظيف الأداة


يمكن إزالة التلوث الشديد باستعمال المحاليل الصابونية الخفيفة، ويمكن إزالة الشحم والزيت باستعمال أثير البترول 40%. ويجب بعدئذٍ تنظيف الأداة بمزيج 50:50 من الماء المقطر والإيثانول 95%، ولكن هذا المحلول غير مناسب لتنظيف السطوح البصرية.

يجب أن تُنظَّف الأجزاء الميكانيكية (لولب الإحكام الغليظ، ولولب الإحكام الدقيق، وجملة مباءرة المكثفة، والرف الميكانيكي) دورياً وتُشحَم دورياً كذلك بقطرة من زيت الماكينات للسماح لها بالحركة بحرية.


صيانة المجهر

يجب الانتباه، لدى القيام بإجراءات التصليح والصيانة، لعدم الالتباس بين لوالب مركزة المكثفة ولوالب مِلْقاط المكثفة. ويجب لصيانة المجهر إجراء ما يلي:

- تدقيق الرف الميكانيكي.
- تدقيق آليه المباءرة.
- إزالة أي نمو فطري.
- تدقيق الحجاب.
- تنظيف كل الأجزاء الميكانيكية.
- تشحيم المجهر وفقاً لتعليمات الصانع.
- تدقيق حِمْل الرِّفاص على ملقاط النموذج، فقد يؤدي الشد القوي جداً إلى انكسار الشرائح وتضرر الملقاط.
- تدقيق الارتصاف **alignment** البصري، وغالباً ما يكون المظهر المبهم للنموذج ناجماً عن غلط ارتصاف الأجزاء البصرية أكثر مما هو ناجم عن الضوء غير الكافي.

الاحتياطات

- إياك أن تغمس الشيئيات في الزايلول أو الإيثانول فقد يؤدي ذلك إلى أن ينحل لِصاقُها وتَتَقَلْقَل.
- إياك أن تستعمل الورق العادي لتنظيف العدسات.
- إياك أن تَلمُس العدسات بأصابعك.
- إياك أن تُنظِف ، العماد أو رف المجهر بالزايلول أو الأسيتون.
- إياك أن تُنظِف باطن عدسات العينيات والشيئيات بالقماش أو الورق (فذلك يزيل عنها الطبقة المضادة للانعكاس) بل استعمِل فرشاة ناعمة أو النفخ.
- إياك أن تترك المجهر دون عينيات، ما لم تَسُدَّ فتحاتها.
- إياك أن تحفظ المجهر في صندوق خشبي مغلق في البلدان الحارة الرطبة.
- إياك أن تضغط الشيئية على الشريحة إذ يمكن أن تنكسرا كلتاهما، وانتبه جيداً لدى مباءرة المجهر.

- حافظ على الرف الميكانيكي نظيفاً.
- لا تُفَكِّك المكونات البصرية إذ قد يسبب ذلك غلطَ الارتصاف، ويجب أن تنظف السطوح البصرية باستعمال نسيج أو ورق ناعم خاصين لتنظيف العدسات.
- إياك أن تترك المجهر والزيت على عدسته الشيئية الغاطسة؛ ويزال أي أثر للزيت يومياً، علماً أن المحلول الصابوني الخفيف مناسب لمعظم حالات التنظف.
- استعمل المذيبات العضوية فقط تبعاً لتوصيات الصانع.
- إياك أن تحمل المجهر من عماده بيد واحدة بل استعمل اليدين معاً، واحدة تحت قاعدته والأخرى تمسك بعماده.
- تجنبْ عند تغيير المصباح ملامسةَ الزجاج بأصابعك إذ أن البصمات تُنْقِص شدة الإضاءة.
- لإطالة عمر المصباح إلى أقصى ما يمكن اضبطْ الفولطاج باستعمال مِفْتَح مُضيء تدريجي **dimmer** لإعطاء أقل ما يلزم من شدة الضوء .
- إذا كان الفولطاج الرئيسي يتموج بشدة استعملْ مُثَبِّتاً **stabilizer** للفولطاج.

احتياطات إضافية تتخذ في الأقاليم الحارة

الأقاليم الجافة

المشكلة الرئيسية في الأقاليم الحارة الجافة هي الغبار إذ تتسلل جسيماته الناعمة إلى أخاديد اللوالب وإلى ما تحت العدسات ويمكن تجنب ذلك كما يلي:

- يُحفظ المجهر دائماً تحت غطاء محكم السد من البلاستيك (البلاستيك) في غير وقت الاستعمال .
- في نهاية العمل اليومي، يُنظَف المجهر جيداً بنفخ الهواء عليه من البصلات المطاطية.
- تُجرَى لمسات التنظيف الأخيرة للعدسات بفرشاة ناعمة من شعر الجمل أو فرشاة تلوين ناعمة أو المنفاخ. إذا بقيت جسيمات الغبار على سطح العدسات الشيئية فتُزال بورق العدسات.

الأقاليم الرطبة

يمكن، في الأقاليم الحارة الرطبة وخلال الفصل الرطب في الأقاليم الحارة الجافة، أن تنمو الفطريات على المجهر وخصوصاً على سطح العدسات وفي أخاديد اللوالب وتحت الطلاء وسرعان ما يصبح المجهر أداة عديمة الفائدة. ويُمكن تلافي ذلك كما هو موصوف فيما يلي:
يُحفظ المجهر دائماً تحت غطاء محكم السد من البلاستيك (البلاستيك) في غير وقت الاستعمال، وذلك مع طبق مملوء بهلامة السيليكا الزرقاء لتجفيف الهواء تحت الغطاء (تنقلب السيليكا إلى اللون الأحمر إذا فقدت سعتها لامتصاص الرطوبة من الهواء، ويمكن تجديدها بسهولة بتسخينها في فرن الهواء الساخن أو فرق النار). يجب أن ينظف المجهر يومياً لتخليصه من الغبار.

يجب القيام بهذه الإجراءات بانتظام وهي أساسية بالاشتراك مع إجراءات التصليح والصيانة.

2.3 الوزن : استعمال الموازين المختبرية

يمكن أن تكون الموازين مُشَغَّلَة كهربائياً أو يدوياً؛ ويجب أن توضع كل الأنماط على منضدة مستوية متينة بعيدة عن الاهتزازات وتيارات الهواء وضوء الشمس المباشر .
يُستعمل الميزان لوزن الكيماويات لإنتاج الكواشف، وبذلك فالتشدد في النظافة أساسي للحصول على نتائج مضبوطة:

- أزل الغبار بالنفخ أو باستعمال فرشاة ناعمة.
- أزل الملونات أو الكيماويات باستعمال فرشاة ناعمة.
- استعملْ وعاءً بلاستيكياً خاصاً للوزن أو ورق الترشيح لوزن الكيماويات على الميزان، وإياك أن تضع الكيماويات مباشرةً على الكفة.

ملاحظة هامة: إذا استعملت الماء لتنظيف الميزان فتأكدْ من جفافه بشكل تام قبل الوزن؛ وضع الميزان دوماً على علامة الصفر قبل الوزن؛ وتحققْ من دقة (مضبوطية) الميزان بانتظام تبعاً لتعليمات الصانع؛ واستعمل المِلْقَط للتعامل مع الأوزان المكونة من كتل.

1.2.3 حساسية الميزان

يُقصَد بذلك أصغر كُتْلَة تجعل مُشيرَةَ الميزان تتحرك بمقدار تدريجة واحدة على سلم الميزان، فإذا كانت حساسية الميزان 1مغ مثلاً فهذا يعني أن كتلة مقدارها 1 مغ على الأقل تَلْزَم لتحريك المشيرة.
وللاستعمالات المختبرية الروتينية يمكن اعتبار حساسية الميزان على أنها أصغرُ كتلة يستطيع أن يقيسها بدقة (مضبوطية).

2.2.3 الميزان المفتوح ذو الكِفَّتين (الشكل 28.3)

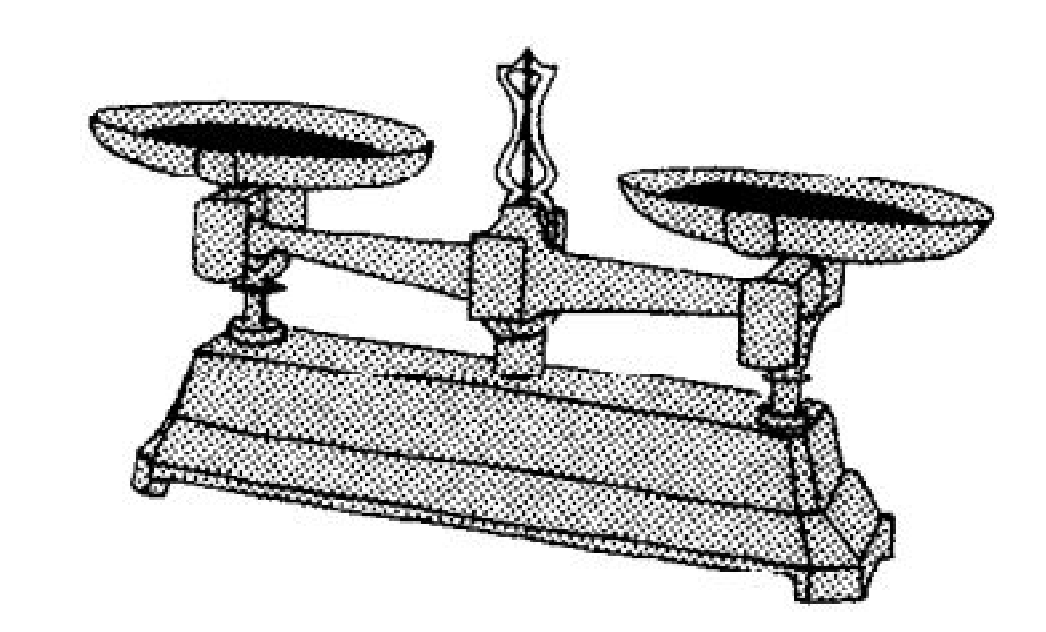
لهذا الميزان كفتان قائمتان على مِحْوَرَيْن، ويمكن له أن يكون مصمماً للاستعمال مع أوزان منفصلة كما هي مرسومة في الشكل (28.3) أو يمكن أن تندرج فيه ذراع مُدَرَّجَة ينزلق عليها وزن مُنْزَلِق. وهو يستعمل لقياس كميات كبيرة (حتى عدة كيلو غرامات) عندما لا تتطلب درجة عالية من الدقة (مضبوطية) مثلاً: 22.5 غ، 38 غ، 8.5 غ، 380 غ.
الحساسية: 0.5 غ.

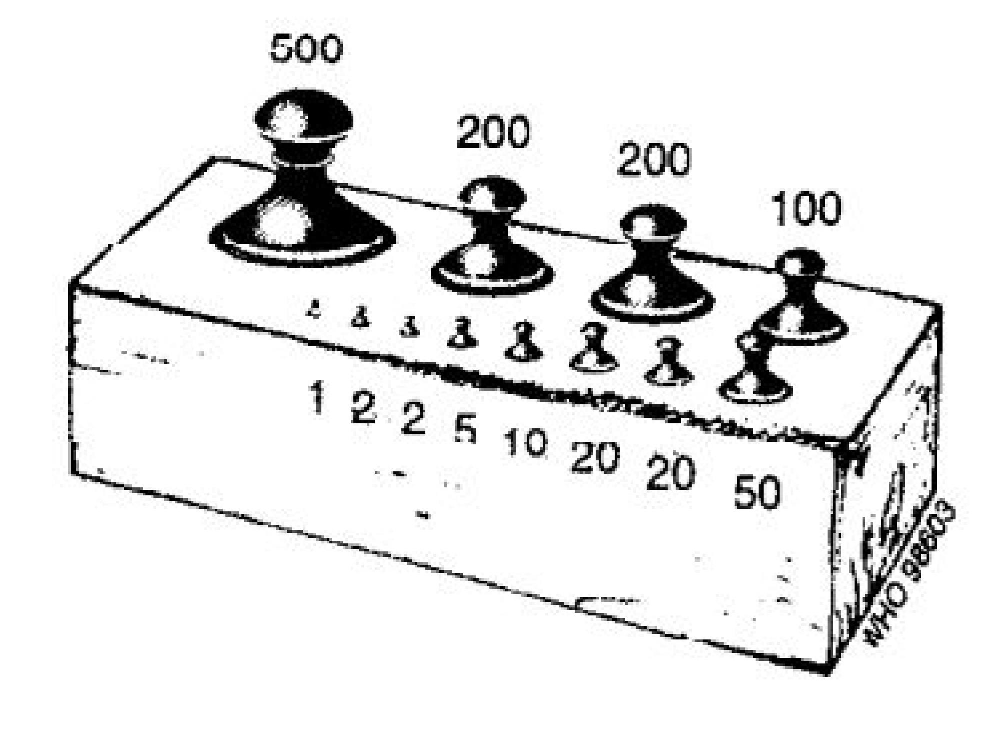
إذا كانت الكفتان مصنوعتين من مادة سهلة الخدش أو التآكل فينبغي وقايتهما بقرصين يُقَصَّان من البلاستيك القوية أو من أفلام الأشعة القديمة على أن يكون لهما نفس الوزن.

تعليمات للاستعمال

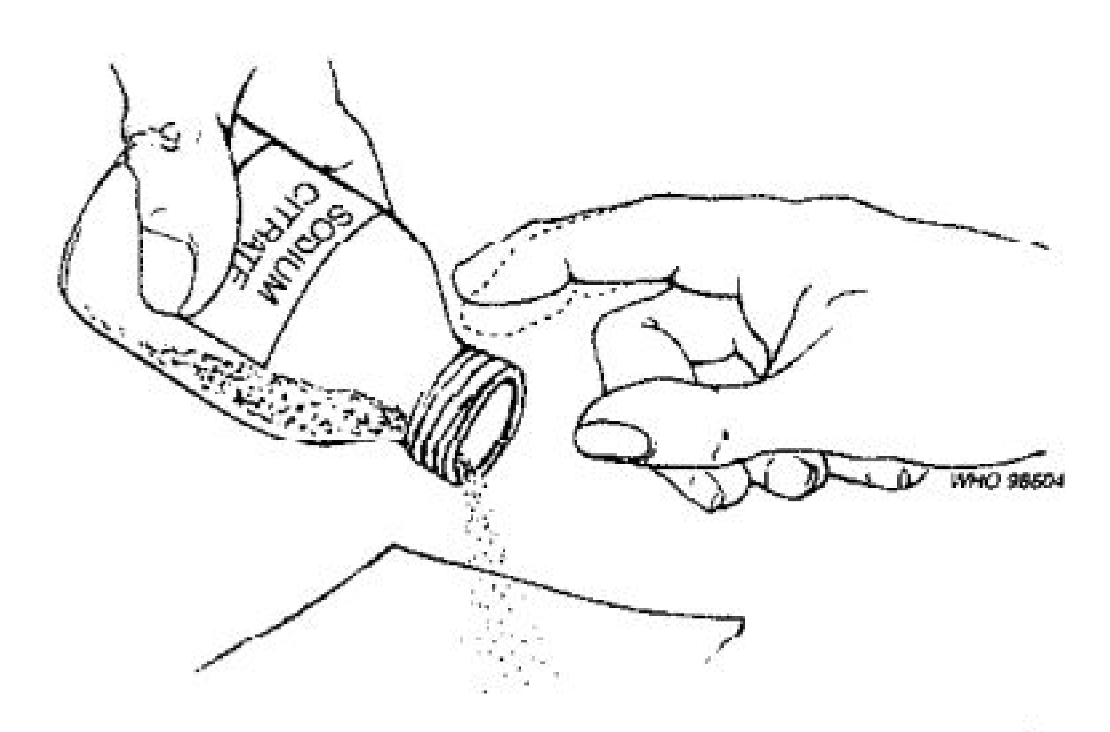
1. توضع القارورة المحتوية على المادة المطلوب وزنها أيسر الميزان.
2. يوضع على الكفة اليسرى إناء من الورق المطوي أو طبق يوضع فيه المادة المراد وزنها.
3. توضع على الكفة اليمنى أوزان موازية لوزن الإناء + الوزن المطلوب للمادة.
4. لقياس المادة المراد وزنها ، تمسك القارورة باليد اليسرى (وجه اللصاقة للأعلى) . ويربت برفق على عنق القارورة باليد اليمنى حتى تنزل البودرة أو البلورات الموزونة قليلاً قليلاً إلى الإناء (الشكل 30.3) (يستعمل ملوق نظيف لإزالة كميات صغيرة من المادة).

عندما يتم وزن المادة تحرك القارورة إلى أيمن الميزان (الشكل 31.3).

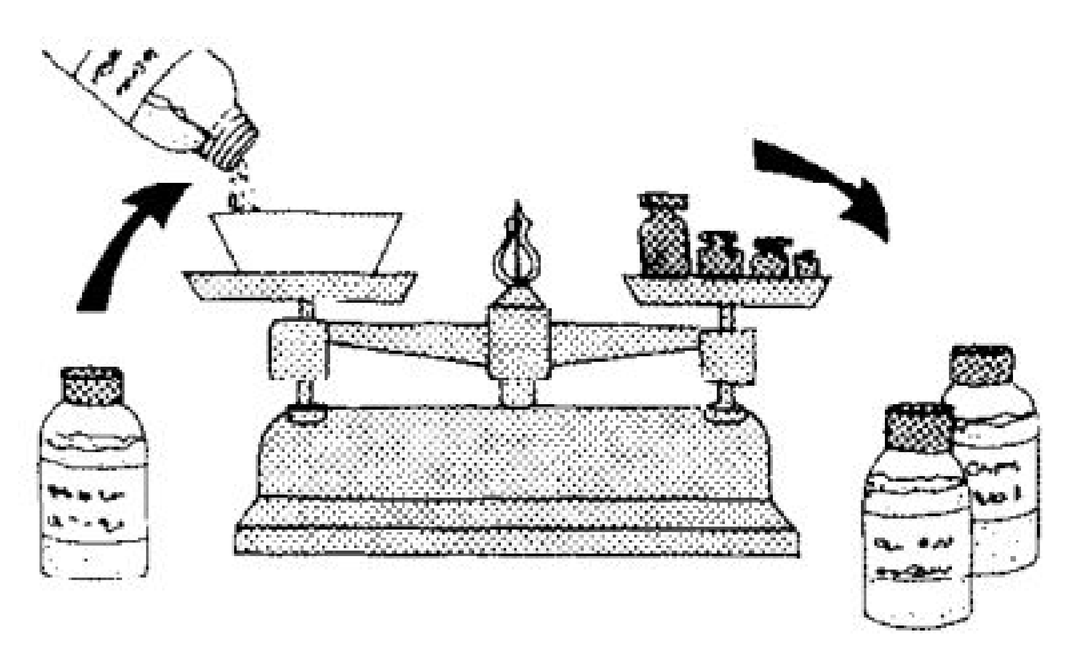

الشكل 28.3. ميزان بكفتين مفتوحتين .



الشكل 29.3. مجموعة أوزان للاستعمال مع الميزان المفتوح ذي الكفتين.



الشكل 30.3. ذر المادة المراد وزنها.





الشكل 31.3. المحافظة على وضع المواد الموزونة وغير الموزونة مفصولةً لتجنب الالتباس.

وهكذا يوضع :
- المواد الموزونة على الأيمن.
- المواد غير الموزونة على الأيسر.

هذا يجنب الالتباس.

تقرأ اللصاقة ثلاثة مرات :
- قبل أخذ القارورة من على الرف.
- أثناء وزن المواد (وجه اللصاقة للأعلى) .
- بعد الوزن ، عند وضع القارورة أيمن الميزان.

3.2.3 الميزان التحليلي

لهذا الميزان كفتان معلقتان على عاتق عرضاني، وهو موضوع في قفص زجاجي.

يُستعمل هذا الميزان:
- لوزن كميات صغيرة (حتى 20 أو 200 غ، حسب طراز الميزان)؛
- عندما نتطلب دقة (مضبوطية) عالية، مثلاً 3.85 غ، 0.220 غ، 6.740 غ.

الحساسية: 0.5مغ – 0.1مغ، حسب طراز الميزان.

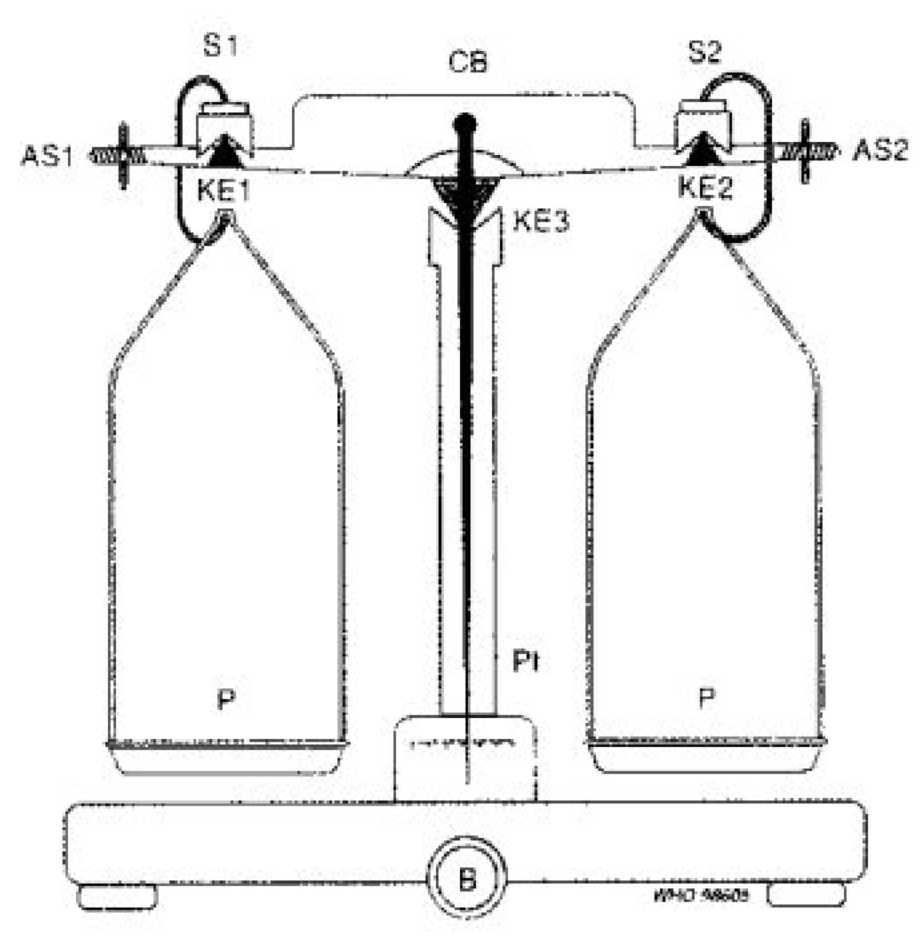
المكونات (الشكل 32.3)

- العاتق العرضاني (CB)، وهذا هو الجزء الذي تتعلق عليه الكفتان.
- حدود السكين (KE^1، KE^2، KE^3)، وهذه تُثبّت العاتق على المُرْتَكَز في أثناء الوزن وتعطي حساسية بالغة للميزان، والتي تكون منها على العاتق تحمل الكفتين المعلقتين.
- المتأرجحان (الرّكابان) (S^1، S^2).
- المُشيرة (Pt).
- الكفَّتان (P).
- لولب تحرير العاتق (أو ضابط إيقاف الكفة) (B)، وهو يوقف الكفة بحيث إن الإضافة المفاجئة للأوزان أو المواد الكيميائية لا تؤذي أطراف السكاكين الحادة.
- لوالب الإحكام (AS^1، AS^2) وتستعمل فقط للإحكام الأولي للميزان غير المحمل من أجل تعيين قراءة الصفر.

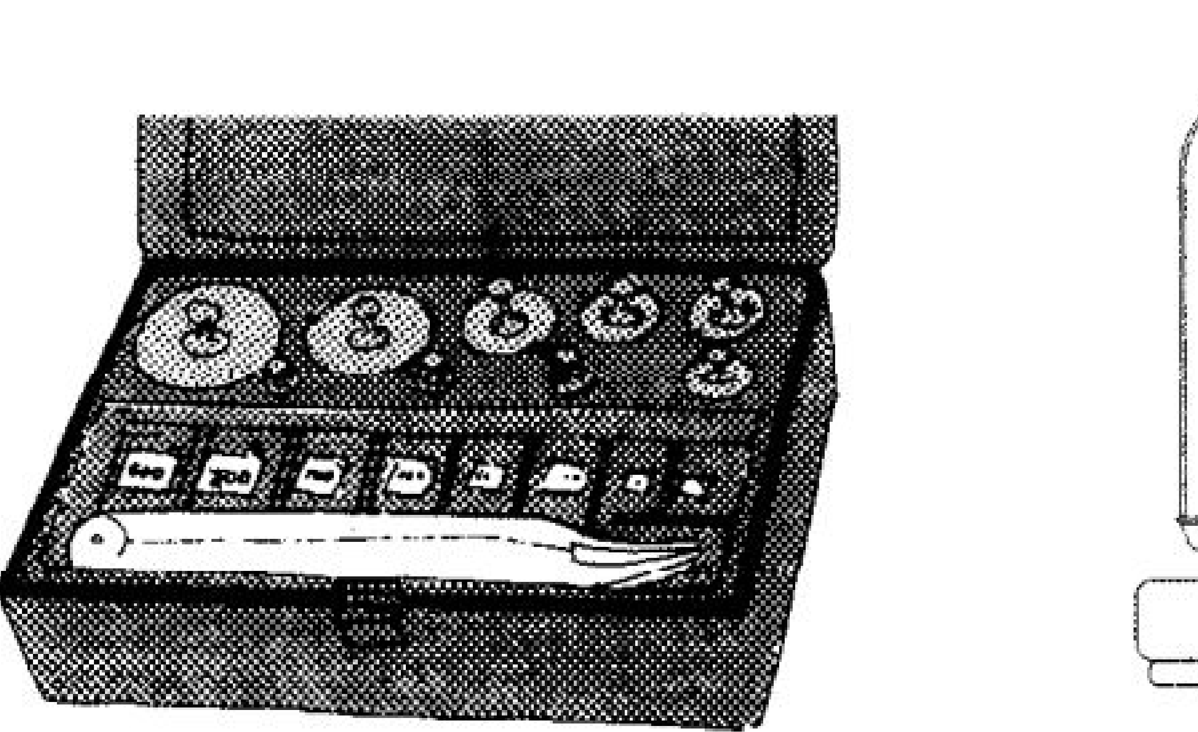
يبدي الشكل 33.3 مجموعة أوزان للاستعمال مع الميزان التحليلي.

تعليمات الاستعمال

- ينبغي أن يكون العاتق مرتاحاً دائماً (لولب تحرير العاتق موثقاً) قبل أن تُوضَع الأوزان أو المواد التي يُراد وزنها على الكفتين.



الشكل 32.3. مكونات الميزان التحليلي:
AS1،2AS: لوالب الإحكام؛ B: لولب تحرير العاتق؛
CB: العاتق العرضاني؛ KE1،KE2،KE3: حدود السكين؛
P: الكفتان؛ Pt: المشيرة؛ 1S،S2: المتأرجحان.



الشكل 33.3. مجموعة أوزان للاستعمال مع الميزان التحليلي.
قطع مفردة: 500،200،100،50،20،10،5،2،1 غ.
كسور مفردة: 500،200،100،50،20،10،5،2مغ.

- يجب التحقق من أن الكفتين متوازنتان (بعد إغلاق القفص الزجاجي) بإرخاء لولب تحرير العاتق.
- ينبغي أن تُوضَع المادة المراد وزنها دائماً على قطعة من الورق مَثْنِيَّة أربع ثنيات، أو في زجاجة ساعة، أو في جَفْنَة من الخزف.
- ينبغي استعمال لوالب الإحكام AS1،AS2 للحصول على ميزان مضبوط أمين عند محاولة معاوضة وزن الأواني التي تُوضَع بها المواد المراد وزنها.
- يجب استعمال الملقط دائماً لالتقاط الأوزان.
- ينبغي أن يُعاد العاتق دائماً إلى حالة الراحة قبل أن تُرفع الأوزان والمواد الموزونة من الكفتين.

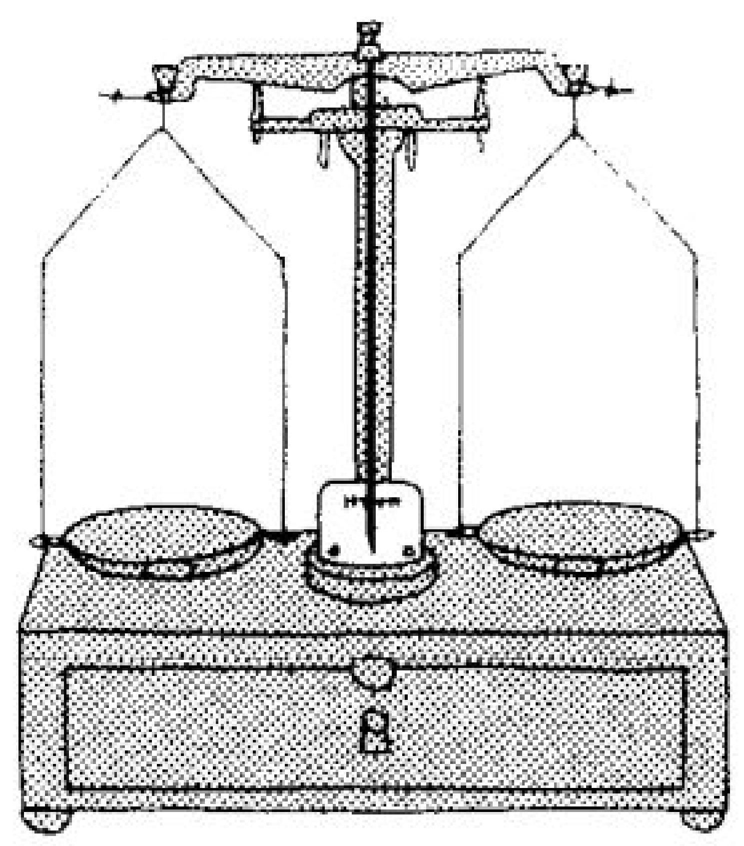
4.2.3 ميزان المستوصف (الشكل 34.3)

لهذا الميزان كفتان معلقتان ولكن ليس له قفص زجاجي.

الحساسية: 5–10 مغ.

إن ميزان المستوصف هو أكثر دقة (مضبوطية) من الميزان المفتوح ذي الكفتين ولكنه لا يزن أكثر من 50 غ.

بعد استعمال ميزان المستوصف يحفظ في خزانة مغلقة.



الشكل 34.3. ميزان المستوصف.

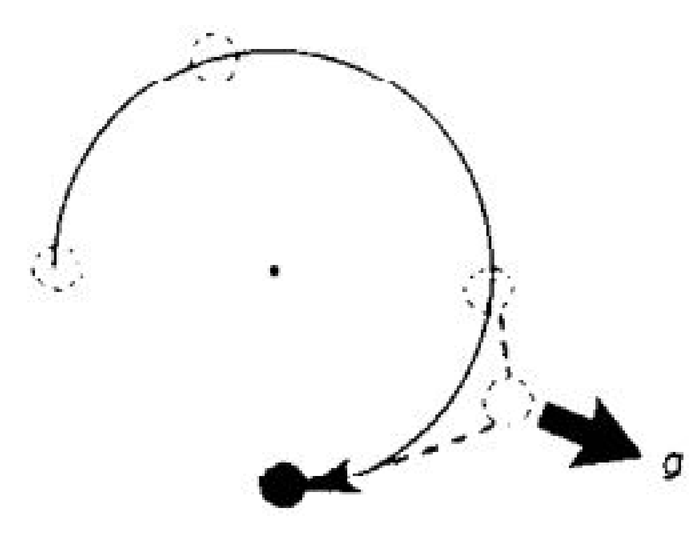
3.3 التنبيذ centrifugation

1.3.3 المبدأ

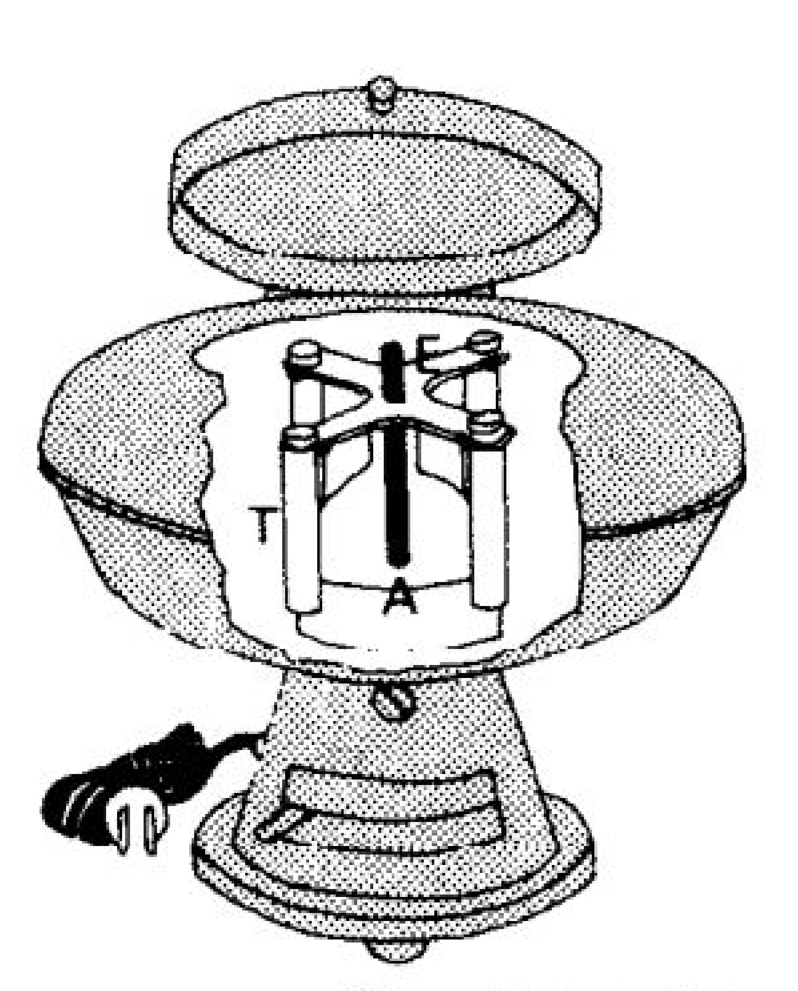
يُدَوَّر جسم بحركة دائرية بسرعة فيولد ذلك قوة تجذب الجسم بعيداً عن مركز الحركة الدائرية وهذه القوة تدعى القوة النابذة (rcf) (الشكل 35.3). ولحساب عدد الدورات بالدقيقة (rpm) من الجاذبية لِمْنْبَذَة ما يقاس نصف قطر (r) ذراع الدوران (بالسنتيمتر) وعدد الدورات بالدقيقة وتستعمل الصيغة التالية:

$$Rcf=1.118 \times 10^{-6} \times r \times (rpm)^2$$

فمثلاً إذا كان نصف القطر 25 سم وعدد الدورات بالدقيقة لمنبذه هو 1300 دوره/د، فإن القوة النابذة تكون حوالي 50 غ.



الشكل 35.3. مبدأ التنبيذ.



الشكل 36.3. مكونات المنبذة :
A: المحور المركزي أو الميرم؛
E: رأس المنبذة؛
T: أنابيب التنبيذ.

مكونات المِنْبَذَة (الشكل 36.3)

تشتمل المنبذة على:

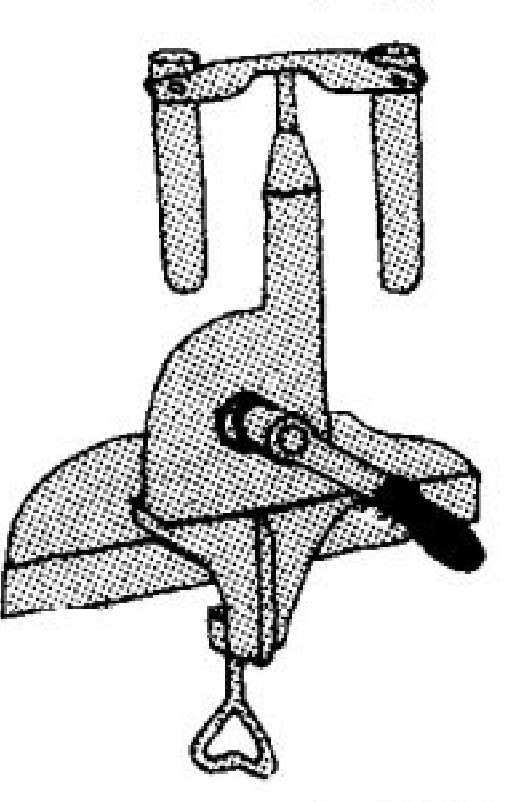
- محور مركزي أو مِبْرَم (A) يدور بسرعة كبيرة.
- رأس(E) مُثَبَّت على المحور، مع دِلاء تحمل أنابيب التنبيذ؛ حيث تكون هذه الدلاء مثبتة في الرأس.
- الأنابيب (T) المحتوية على السائل المراد تنبيذه.

عندما يدور المحور يُدَوِّر الأنابيب التي تصبح معرضة للقوة النابذة، فتتأرجح وتدور حتى تصبح أُفقية، أما الجسيمات المعلقة في السائل الموجود في الأنبوب فتُنْبَذ نحو قاعه، ثم تُرَصّ هذه الجسيمات في قاع أنبوب التنبيذ مشكلةً راسبَ التنبيذ، وهذا الراسب يمكن فصله عن السائل الطافي وفحصه، وقد يحتوي مثلاً على:

الكريات الدموية؛
- بيوض الطفيليات (في البراز المُخَفَّف)؛
- خلايا من السبيل البولي (في البول).

2.3.3 أنماط المنابذ

المنبذة اليدوية (الشكل 37.3)



الشكل 37.3. المنبذة اليدوية.

تُشَغَّل هذه المنبذة يدوياً بإدارة المقبض، وهي تستوعب أنبوبين أو أربعة.

يمكن اسعمال المنبذة اليدوية :

- لفحص الرواسب البولية، و
- لتركيز بعض الطفيليات في البراز.

على أن سرعتها غير كافية لفصل الكريات الحمر عن البلازما الدموية بشكل مقبول.

ملاحظة هامة:

- يجب تثبيت المنبذة جيداً على حامل ثابت (طرف منضدة).
- يوازن الأنبوبان المتقابلان قطرياً موازنة تامة كما هو وارد في تعليمات الاستعمال، الفقرة 3.3.3.
- يحافظ الفاحص الوقوف على مسافة مناسبة عن المنبذة في أثناء تشغيلها .
- لإيقاف المنبذة ينبغي عدم التبطيء في دوران المقبض، وإنما يسحب المقبض من الماكِنَة بحركة سريعة.
- تُخرَج الأنابيب ببطء وعناية (بحيث لا يضطرب الراسب).
- يُشَحَّم مِبْرَم (محور) المنبذة بانتظام.

تحذير : يمكن أن تسبب المنبذة اليدوية أذى شديداً ولذلك ينبغي اتباع التعليمات السابقة بعناية.

المَنابذ الكهربائية

تُسْتَعْمَل منابذ صغيرة مُشَغَّلَة بالبطارية أحياناً في الدمويات.

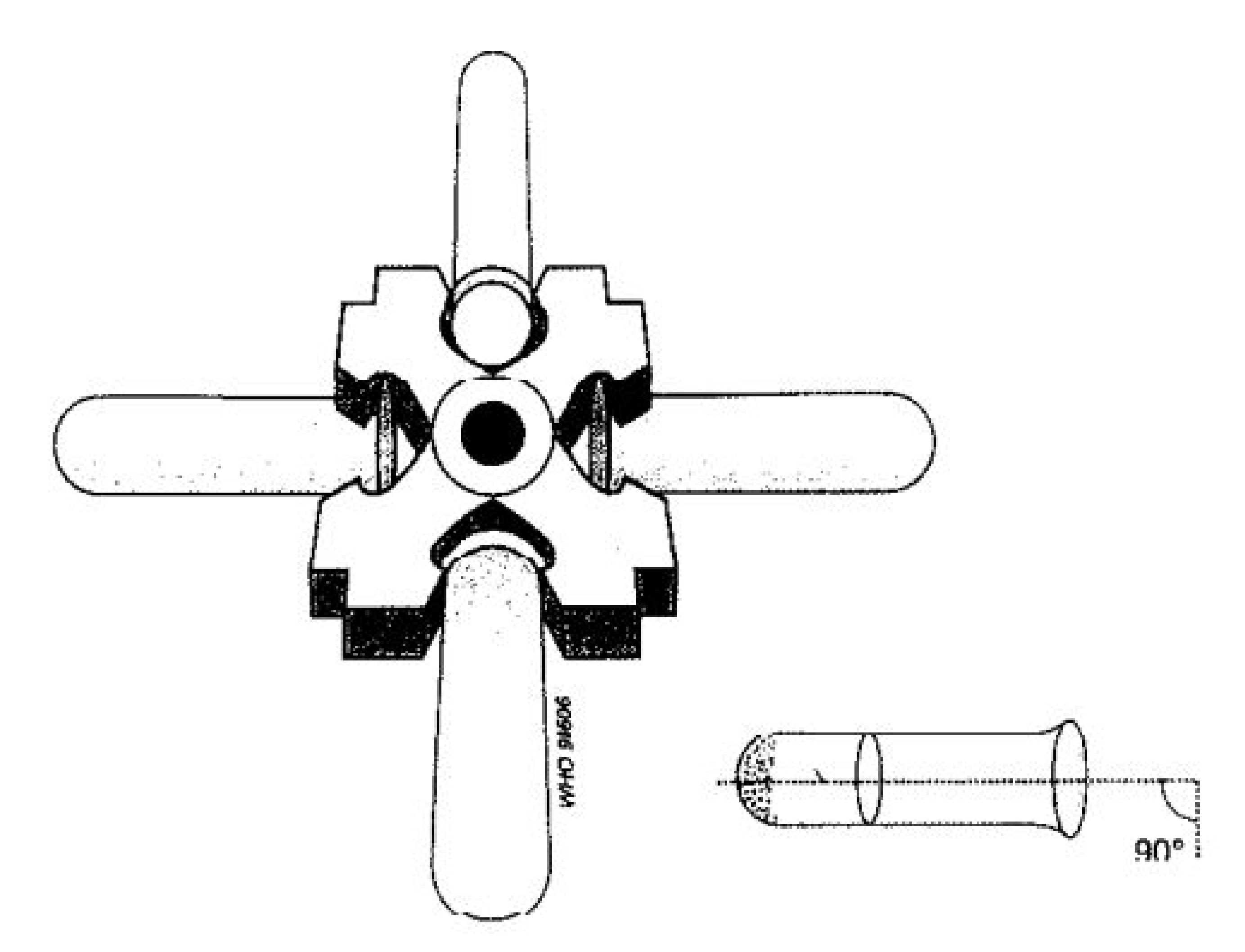
وتُستعمل المنابذ الكهربائية مع نمطين للرأس: الرأس «الأفقي» والرأس «المائل».

المنبذة الأفقية Swing-out head (الشكل 38.3)

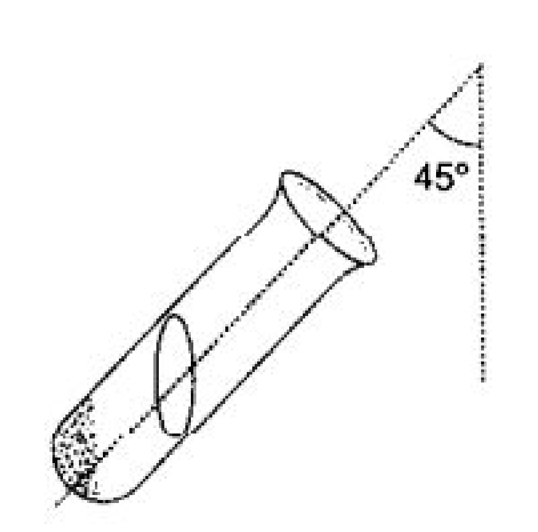
يُصمَم رأس المنبذة بحيث تتأرجح الأنابيب وتدور حتى تصل إلى الوضع الأفقي في أثناء التنبيذ، وهذا هو النمط الذي نحتاجه أكثر من سواه.

المبذة المائلة Angle head (الشكل 39.3)

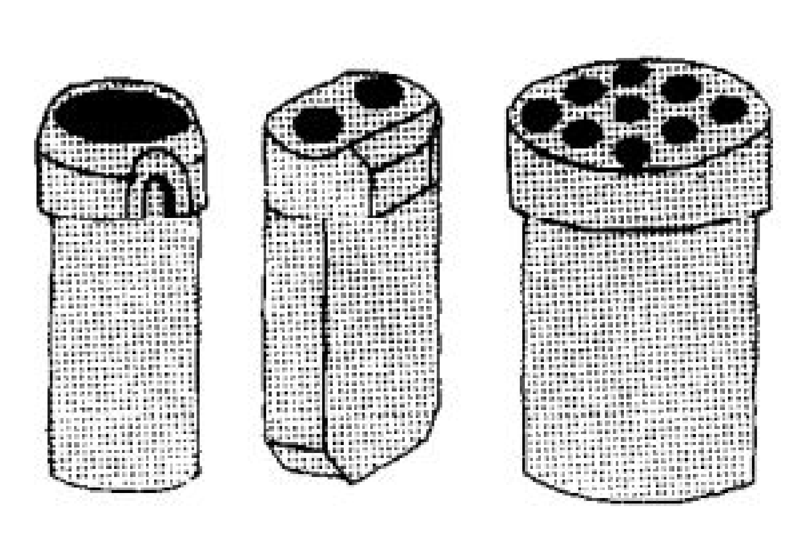
تبقى الأنابيب في هذا النمط مائلة بزاوية مقدارها حوالي 45° في أثناء التنبيذ. وهي مفيدة في بعض الطرائق، مثلاً: اختبارات التراص في تعيين الزمر الدموية بطريقة أنبوب الاختبار.



الشكل 38.3. المنبذة الأفقية.



الشكل 39.3. المنبذة المائلة.



الشكل 40.3. أنماط دلاء المنبذة.

الدلاء (حوامل الأنابيب)

توجد عدة أنماط للدلاء للاستعمال مع المنابذ الكهربائية (الشكل 38.3)، ويعتمد اختيارها على طراز المنبذة:

- الدلاء المصممة لحمل أنبوب واحد، مدور القاع أو مخروطي؛
- دلاء تحمل أنبوبين مُدَوَّرَيْ القاع أو مخروطيين؛
- دلاء تحمل تسعة أنابيب صغيرة (للترسيب)، الخ...

تزود بعض طرار المنابذ بـ:

- مُؤَقِّت، يوقف المنبذة تلقائياً عندما ينتهي الوقت المحدد (مثلاً بعد 5 أو 10 دقائق)؛
- غرفة تبريد تجنب تسخين النموذج خلال التنبيذ.
- عَدّاد الدورات أي مِشْوَر ذو إبرة تدل على سرعة المنبذة في أثناء التنبيذ (وهذا مفيد في بعض طرق تركيز الطفيليات).

المَنابِذ التي تعمل بالبطارية

تستعمل أحياناً منابذ صغيرة تعمل بالبطارية في الدمويات لقياس الحجم المكدس للخلايا.

3.3.3 تعليمات الاستعمال

يجب دوماً اتباع تعليمات الصانع لدى استعمال المنبذة.

الشكل 41.3. موازنة أنابيب المنبذة.

نصب المنبذة

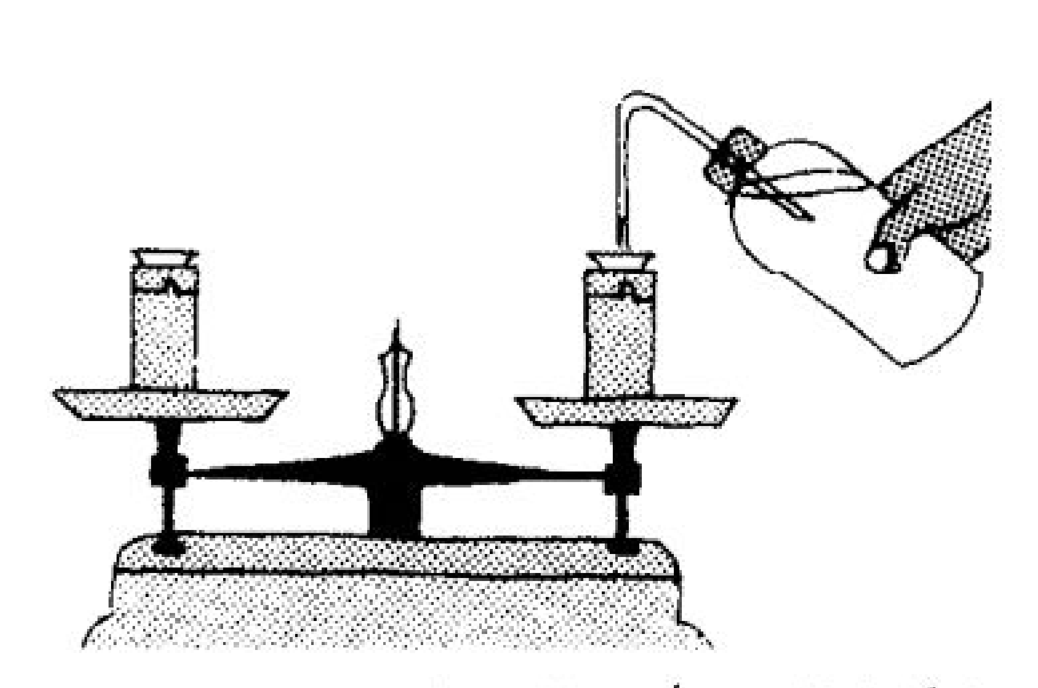
يجب أن توضع المنبذة على وسائد مطاطية أو قطعة قماش على سطح مستوٍ مسطح.

موازنة الأنابيب

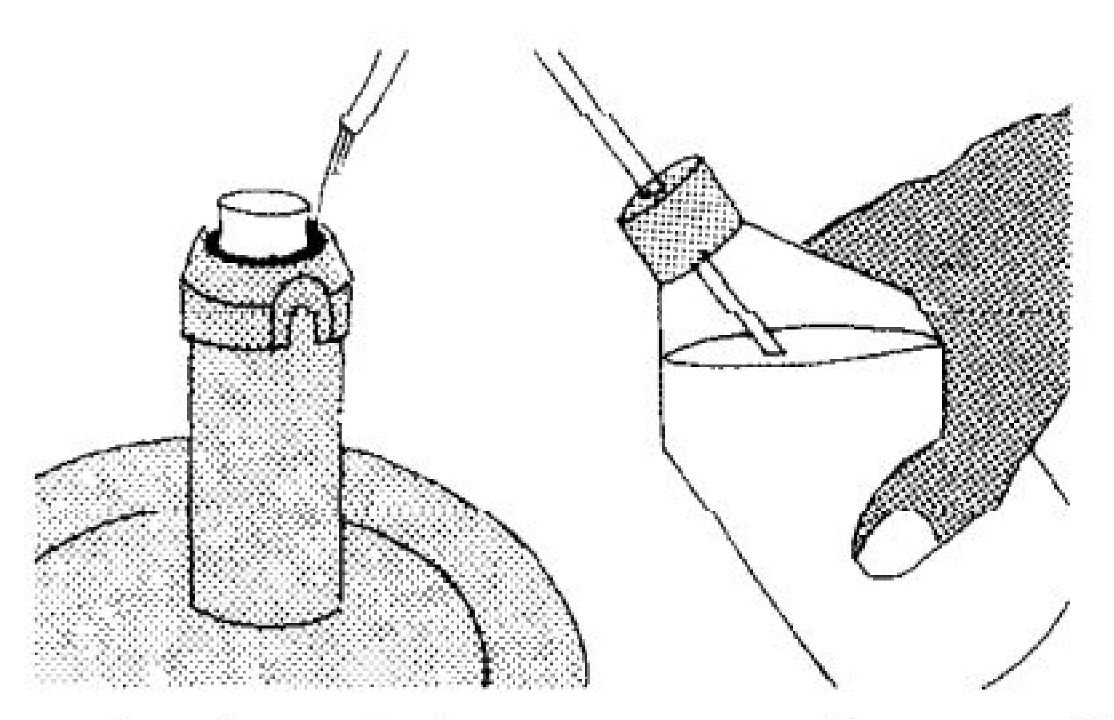
إذا كانت الأنابيب مرقمة فينبغي وضعها كما في الشكل 41.3.

- الأنبوب 1 يقابل الأنبوب 2؛
- الأنبوب 3 يقابل الأنبوب 4.

تُوازَن الأنابيب المتقابلة بوزن كل اثنين منها في دلويهما على ميزان مفتوح الكفتين.



الشكل 42.3. موازنة أنابيب المنبذة بإضافة سائل إلى الأنبوب الأخف.



الشكل 43.3. موازنة أنابيب المنبذة بإضافة الماء إلى الدلة الحاوية على الأنبوب الأخف.

وللموازنة: إما أن يُضاف مزيد من السائل المُراد تنبيذه إلى الأنبوب الأخف (الشكل 42.3)؛ أو أن يُضاف الماء إلى الدلة المحتوية على الأنبوب الأخف باستعمال قارورة غاسلة (نَضَّاحَة) (الشكل 43.3).

وإذا كان يراد تنبيذ أنبوب واحد من السائل فحسب، فإنه يُوازَن بأنبوب مماثل مملوء بالماء.

اتقاء انكسار الأنابيب

ينبغي دائماً أن يُوَسَّد قعر الدلو بالوسادة المطاطية التي تزوِّد بها الشركة الصانعة، فهذه تَقِي قاع أنبوب المنبذة.

وبواسطة القارورة الغاسلة، يضاف قليل من الماء بين كل أنبوب ودلوه.

احتياطات السلامة

- التحقق من أن الأنابيب ذات حجم مناسب للمنبذة، فالأنابيب الكبيرة جداً أو الصغيرة جداً يمكن أن تنكسر.
- تُملأ الأنابيب إلى ثلاثة أرباع سعتها الكاملة على الأكثر لاتقاء التناثر ضمن تجويف المنبذة.
- تُوازَن دلاء المنبذة قبل بدء التنبيذ دوماً، إذ أن عدم إجراء ذلك يمكن أن يسبب إرهاقَ المنبذة بشدة أو تحركَها.
- يجب التأكد من أن الغطاء مغلق قبل بدء التنبيذ.
- حين البدء بالتنبيذ تُزَاد السرعة بالتدريج بتدوير الزر ببطء إلى أن يتم بلوغ السرعة المطلوبة.
- تُوَقَف المنبذة بالتدريج (بعض الطراز لها مِكْبَح يمكن استعماله). عدم محاولة تبطئة المنبذة يدوياً.
- لا يجوز رفع غطاء المنبذة إلى أن تقف تماماً.
- تُسْتَخْرَج الأنابيب ببطء وعناية.

التنظيف والصيانة

لمعرفة تفاصيل تنظيف وصيانة المنابذ، انظر الفقرة 3.5.3.

4.3 قياس وتوزيع السوائل

إن الكثير من السوائل التي يتم التعامل معها في المختبر هي إما مُعْدِيَة أو أكّالَة أو سامة، ومن المهم لاتقاء الحوادث أن تكون الإجراءات الصحيحة لقياس وتوزيع هذه السوائل مفهومةً بوضوح ومُتَّبَعَةً بوعي ومسؤولية.

تتطلب العديد من إجراءات التحليل الحديثة حجوماً صغيرة جداً من السوائل، وتتوافر الآن جهائز مختلفة للمص والتوزيع تُمكّن من قياس الحجوم الصغيرة بدقة كبيرة.

ويمكن قياس الحجوم الكبيرة باستعمال مِخْبار مُدَرَّج أو حَوْجَلَة حجمية.

ويقيس المخبار المدرج حجوماً مختلفة للسائل ولكنه ليس مضبوطاً كثيراً؛ أما الحوجلة الحجمية فتقيس حجماً معيناً من السائل (مثلاً 1 لتر) بدقة (مضبوطية).

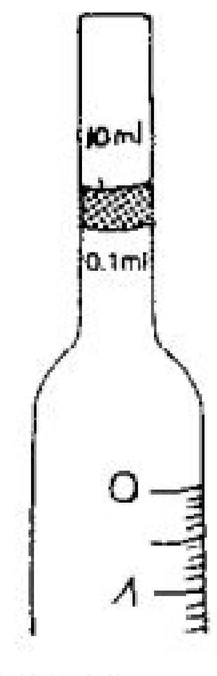
ويمكن توزيع حجوم صغيرة من السائل (0.1—10مل) بسرعة وبدقة باستعمال إحدى الطرائق التالية:

- مُوَزِّع dispenser حجمي ثابت أو متغير مرتبط بمستودع مصنوع من الزجاج أو البولي بروبيلين؛ ويمكن توزيع حجوم مختلفة من 0.1 إلى 1.0 مل ومن 2.0 إلى 10.0 مل.
- ممص مُغَيَّر مع بصلات مطاطية للسلامة.

1.4.3 الممصات pipettes

أنماط الممصات

الممصات المُدَرَّجة



الشكل 44.3. الممص المُدَرَّج.

تُسجَل المعلومات التالية على ذروة الممص المدرج (الشكل 44.3):

- الحجم الكلي الذي يمكن قياسه بالممص؛
- الحجم المحصور بين تدريجتَيْن متواليتين.

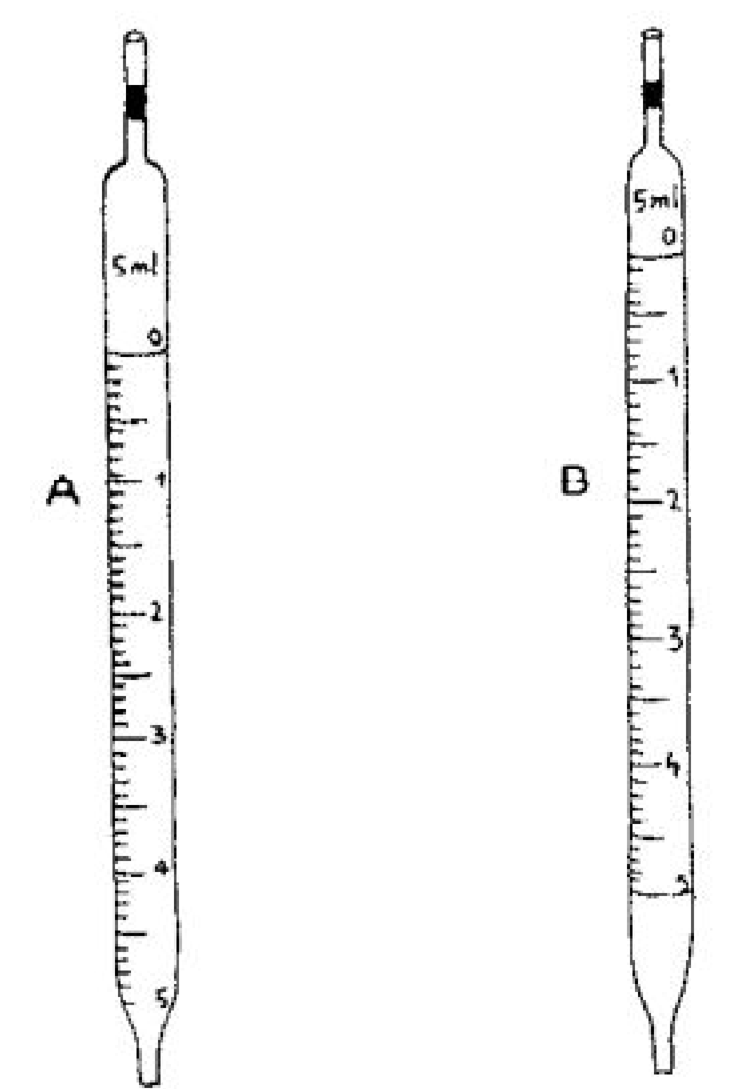
هنالك نمطان من الممصات المدرجة (الشكل 45.3) :

ممص ذو تدريجات تصل إلى الذروة (أ)، فالحجم الإجمالي الذي يمكن قياسه يكون محتوى بين علامة الصفر والذروة.

ممص ذو تدريجات لا تصل إلى الذروة (ب)، فالحجم الإجمالي يكون محتوى بين علامة الصفر والعلامة الأخيرة قبل الذروة (وهذا النمط هو الموصى به للاختبارات الكيميائية الكمية).

يمكن أن تُقاس حجوم مختلفة باستعمال الممصات المدرجة، مثلاً:

- الممص سعة 10 مل يمكن أن يستعمل لقياس 8.5 مل.
- الممص سعة 5 مل يمكن أن يستعمل لقياس 3.2 مل.
- الممص سعة 1 مل يمكن أن يستعمل لقياس 0.6 مل.



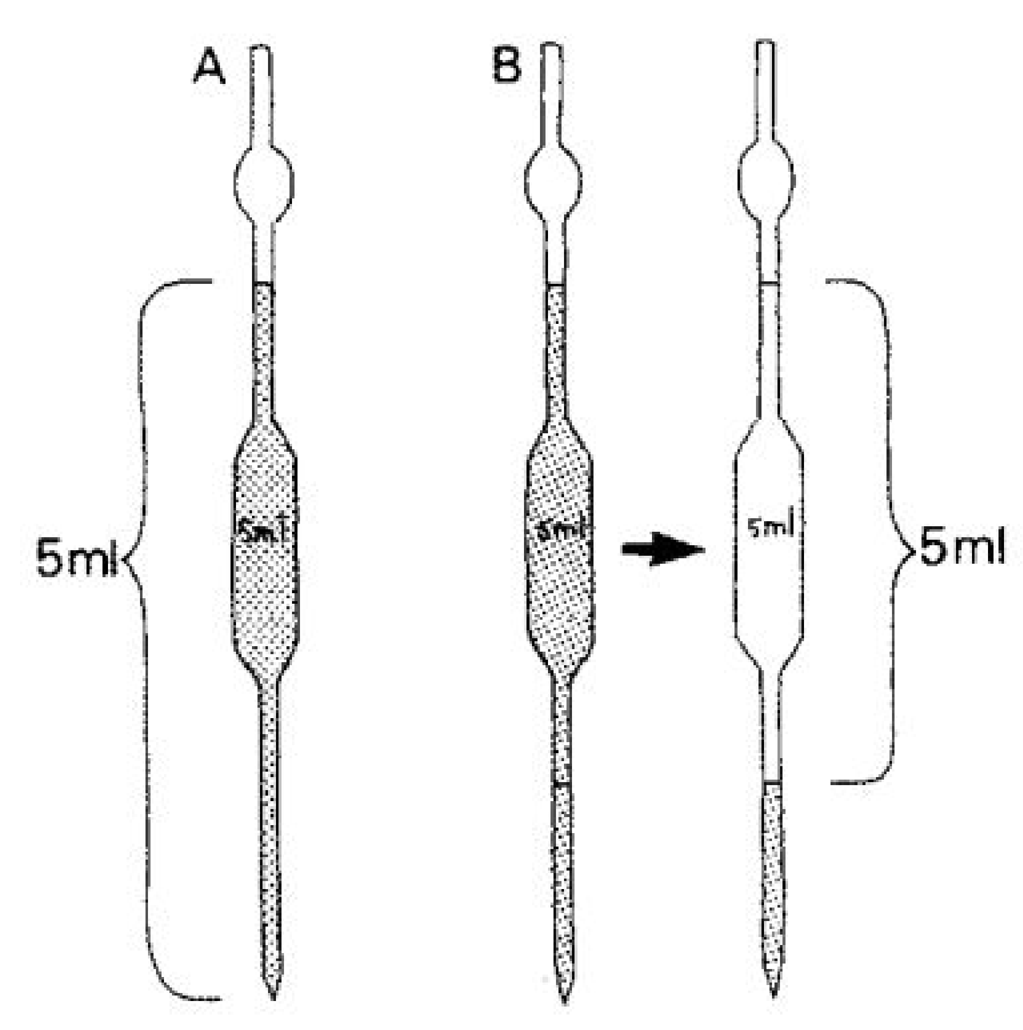
الشكل 45.3. أنماط الممصات المدرجة:
A: ممص ذو تدريجات تصل إلى الذروة؛
B: ممص ذو تدريجات لا تصل إلى الذروة.

الممصات الحجمية

يُقصَد بهذه الممصات أن تقيس حجماً دقيقاً بدرجة عالية من الدقة (المضبوطية).

ويوجد نمطان للممصات الحجمية (الشكل 46.3):

- ممص ذو تدريجة واحدة (A)، يُقْصَد منه أن يملأ حتى العلامة. فبعد تفريغ المحتويات يُسْتَنْضَب الممص على جدار الإناء مدة 15 إلى 45 ثانية بحسب حجمه (المرقم على انتفاخ الممص)، وتُعْتَصَر القطرة الأخيرة على جدار الإناء المتلقي ولا ينبغي أن تُنْفَخ.



الشكل 46.3. أنماط الممصات الحجمية:
A: ممص ذو تدريجة واحدة؛
B: ممص ذو تدريجتين.

- ممص ذو تدريجتين (B)، وهذا في الأيدي الخبيرة يكون أكثر دقة (مضبوطية)، ولكنه أقل موثوقية لدى استعماله بأيدي الشخص غير الخبير لأنه يسهل تَجاوُز تدريجته السفلى عند إفراغ المحتويات.

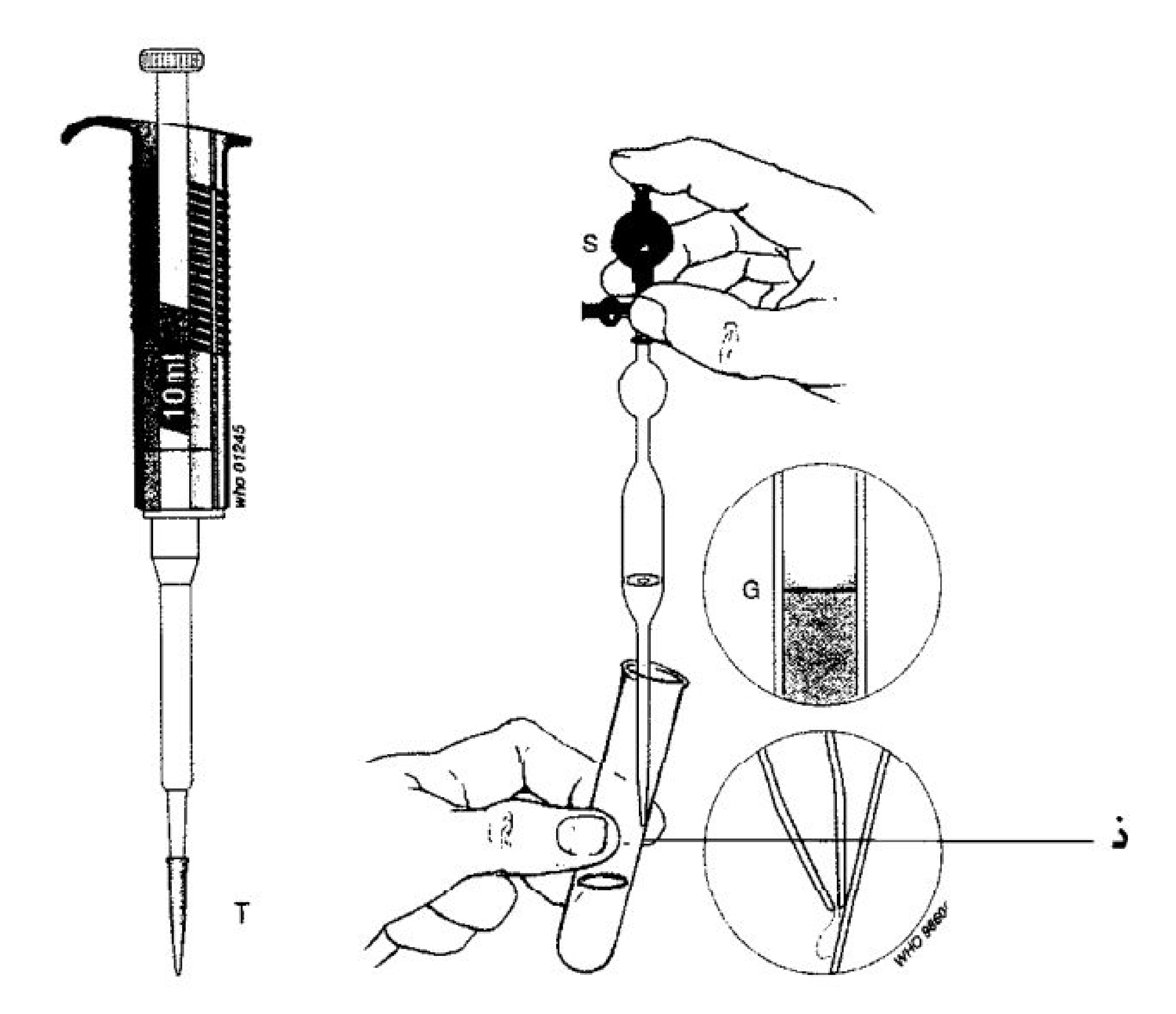
يُمْسَك الممص في وضعية قائمة للتحقق من أن السائل قد وصل إلى التدريجة المطلوبة (G في الشكل47.3)، ويجب أن تكون هذه التدريجة مماسة لقاع الهِلالَة التي يشكلها السائل. وتُلْصَق ذروة الممص (ذ) بجدار الإناء أثناء إفراغ السائل فيه.

الممصات البلاستيكية ذات البصلة

الممصات البلاستيكية ذات البصلة هي أرخص ومفيدة كثيراً لنقل حجوم من السوائل كالمصول أو المُطَهِّرات، وتكون ذات ذُرى tips مختلفة ويمكن الحصول عليها مُعَيَّرة بتدريجات مُعَلَّمَة على ساقها. ويمكن إعادة استعمالها بعد التطهير والغسل ولكن لا يمكن وضعها في الموصدة.

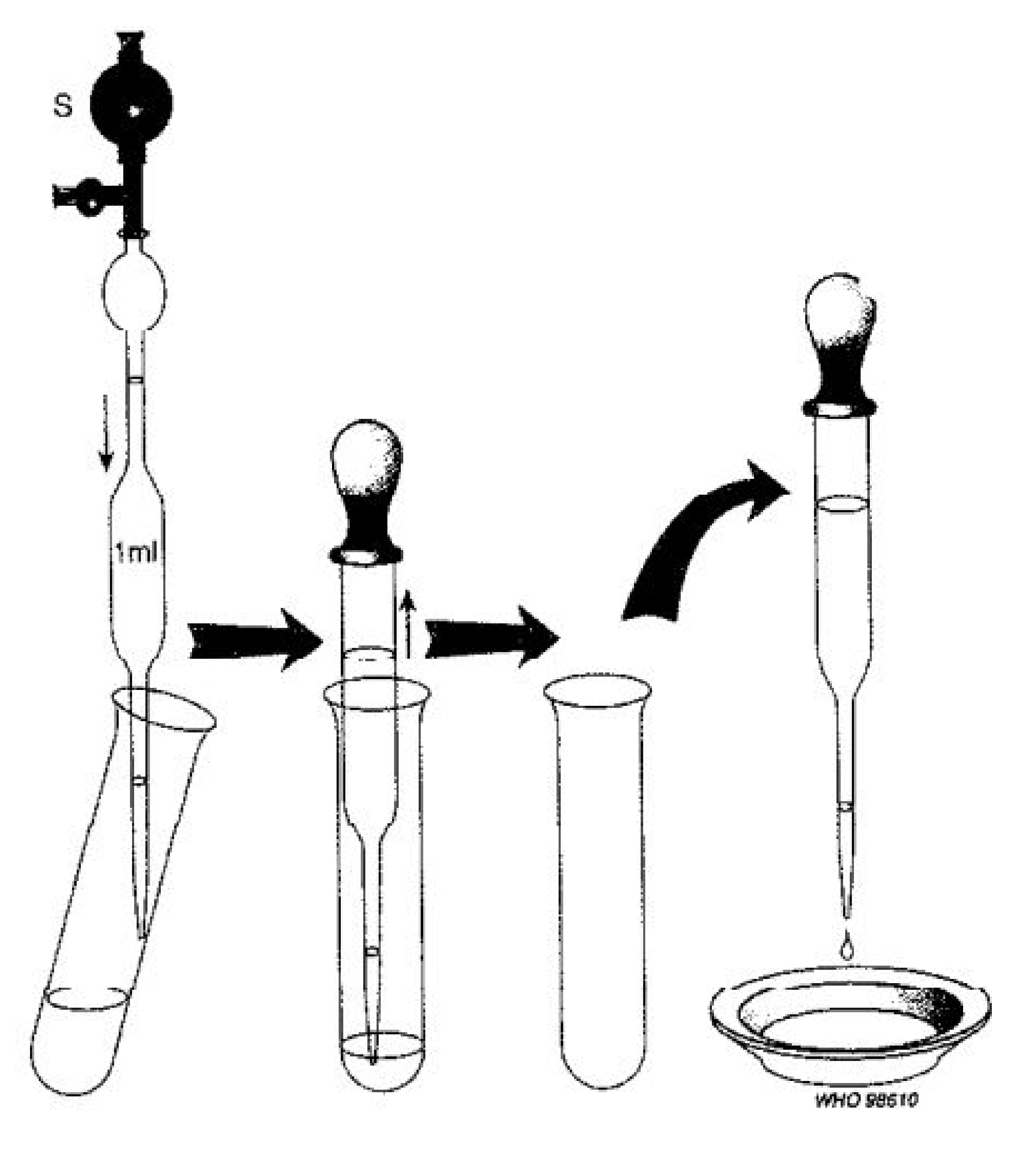
الممصات الدقيقة (المكروية) Micropipettes

تستخدم الممصات الدقيقة ذات الذرى الوحيدة الاستعمال بكثرة لقياس الحجوم الصغيرة. وهي متوفرة بعدة حجوم تتراوح بين 5مكل و1000مكل. ويتم التخلص من الذرى المستعملة بقذفها في مادة مطهرة. للممصات الدقيقة وضعيتان يتم التحكم بهما بالإبهام (الشكل 48.3). الأول يستخدم لالتقاط العينة والثاني لطردها من الذروة إلى أنبوب أو وعاء.

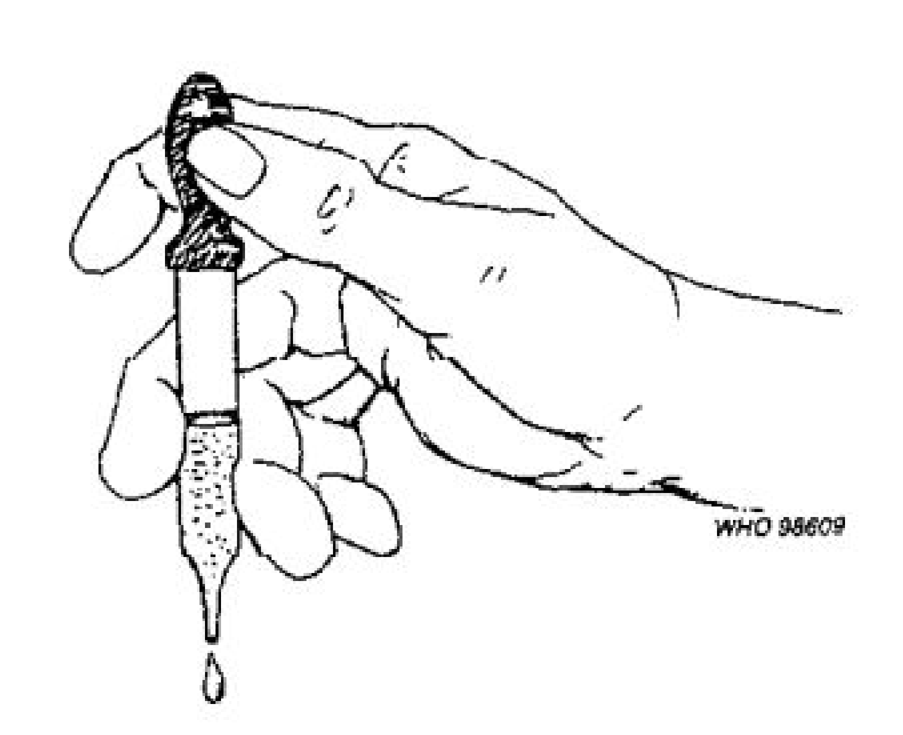


الشكل 48.3. ممص مكروي ذو ذروة وحيدة الاستعمال T.

الشكل 47.3. كيفية مسك الممص:
G: التدريجة المطلوبة؛ S: انتفاخ أمان.



الشكل 50.3. تعيير الممصة القطارة.
S: انتفاخ أمان.



الشكل 49.3. استعمال الممصة القطارة.

يجب معايرة الممصات الدقيقة وصيانتها وفق تعليمات الشركة المصنعة.

الممصات القَطّارة المُعَيَّرَة

إن الممصات القطارة المعيرة العادية تعطي غالباً 20 قطرة لكل مل واحد من الماء المقطر وعلى هذا فإن القطرة تساوي 0.05 مل. تُمسَك الممصة القطارة بشكل قائم تماماً لطرد القطرات (الشكل 49.3).

تَعْيير الممصات القطارة

باستعمال ممص حجمي (انظر ص 74) يقاس 1 مل من الماء في أنبوب صغير، ثم يُسْحَب الماء إلى داخل الممصة القطارة المراد تعييرها، ويُعَد عدد القطرات التي تعطيها الممصة من هذا الميليلتر الواحد من الماء. ويُعاد هذا الإجراء ثلاث مرات للتحقق من الدقة (المضبوطية).

تحذيرات

إن المص بالفم خطر ويجب تجنبه، و يمكن أن يسبب ما يلي:

- العدوى
- الحروق
- التسمم
- الجروح.

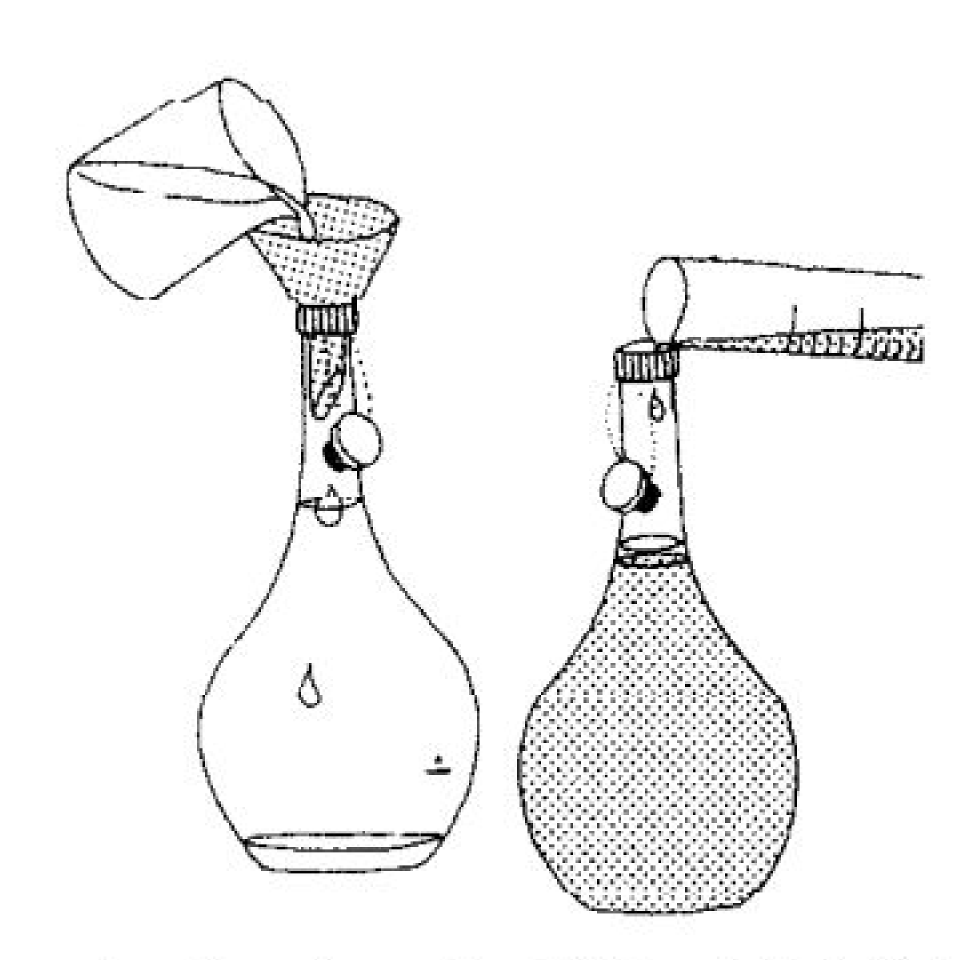
ويجب دائماً استعمال بصلات مطاطية مع الممص وذلك لسلامة العاملين في المختبر (الشكل 3 . 50) .

2.4.3 الحواجل الحجمية

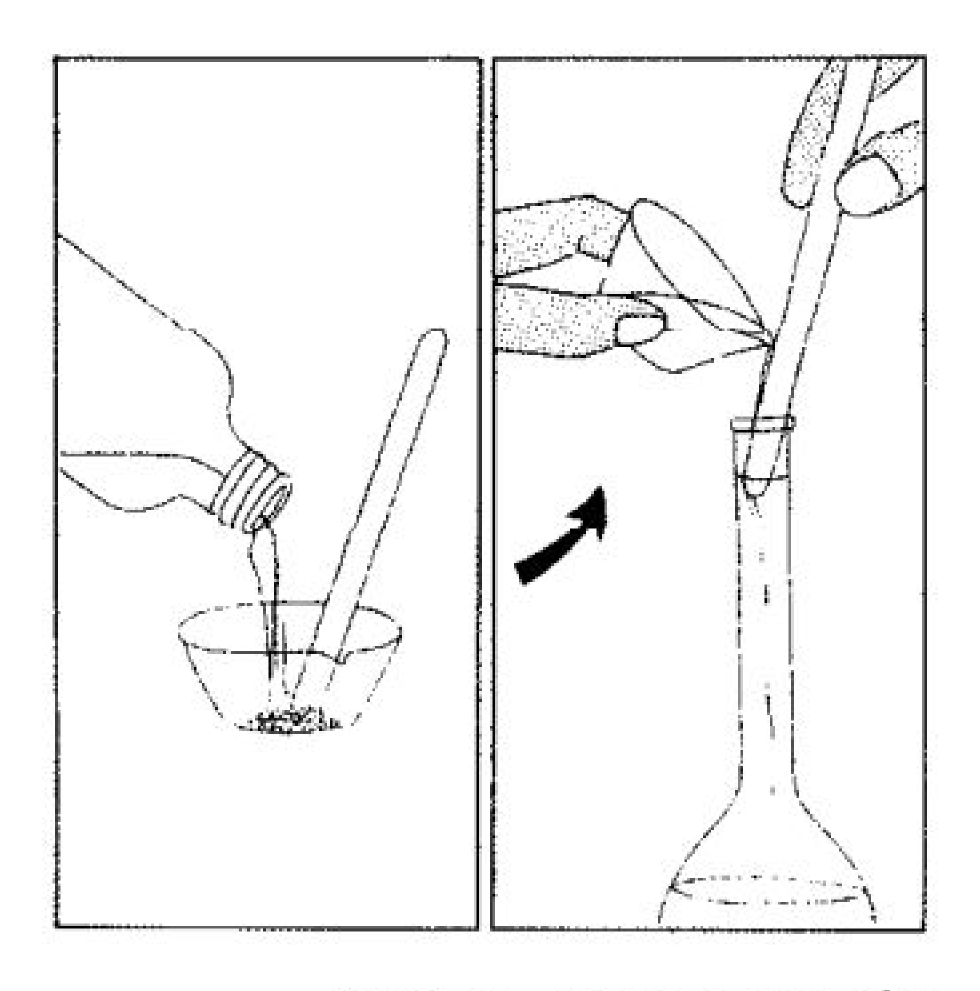
وهي مدرجة لقياس حجم معين عندما تملأ إلى التدريجة.

ولها سعات متعددة:
- 2000 مل.
- 1000 مل.
- 500 مل.
- 250 مل.
- 200 مل.
- 100 مل.
- 50 مل.
- 25 مل.

والحواجل ذات التدريجات الحجمية هي أكثر دقة (مضبوطية) من الأسطوانات المدرجة ويجب أن تُستعمَل لتحضير الكواشف.



الشكل 51.3. تحضير محلول كلوريد الصوديوم في حوجلة حجمية.

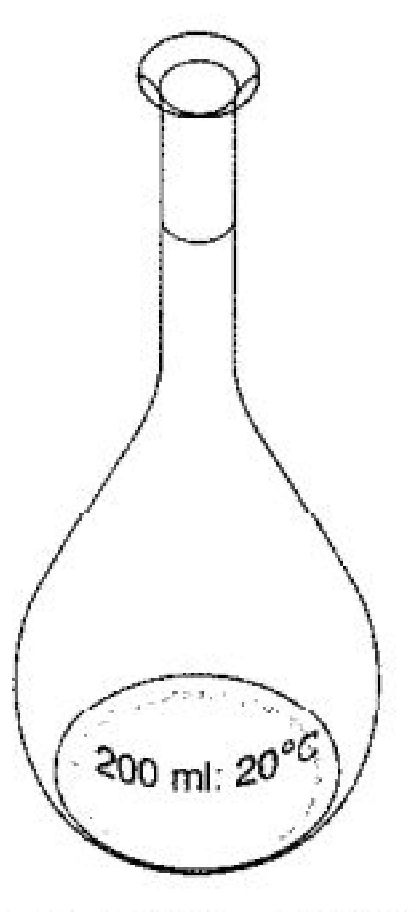


الشكل 52.3. طريقة بديلة لتحضير الكواشف باستعمال الحوجلة الحجمية.

مثلاً: محلول 1 لتر من كلوريد الصوديوم 8.5 غ/ل (0.85%) (الكاشف رقم 53) يهيأ بوضع 8.5 غ من كلوريد الصوديوم مذابة في دورق بالماء في حوجلة سعتها 1000 مل من خلال قمع ثم تُخفَّف بالماء و تمزج إلى علامة 1000مل (الشكل 51.3). ويجب أن يُرَجّ المحلول قبل الاستعمال.
أو بدلاً من ذلك، يمكن أن تُذاب المادة (المواد) في وعاء صغير ثم يُصب المحلول في الحوجلة على قضيب زجاجي (الشكل 52.3).
ثم تُملأ الحوجلة إلى تدريجتها بالماء. (هذه الطريقة هي الموصى بها لتحضير الكواشف الكيميائية المُعايَرة).

حرارة السائل

إن الحرارة التي تُقاس بها السوائل تكون محفورة على الحوجلة (بعد الرقم الدال على سعة الحوجلة؛ الشكل 53.3). ومن المعلوم أن السوائل تتمدد بالحرارة وتتقلص بالبرودة، فلا يجوز قياس السوائل الحارة، أو السوائل الباردة بمجرد إخراجها من الثلاجة.



الشكل 53.3. تعليم الحرارة التي يجب أن يقاس بها الكاشف على الحوجلة.

السدادات

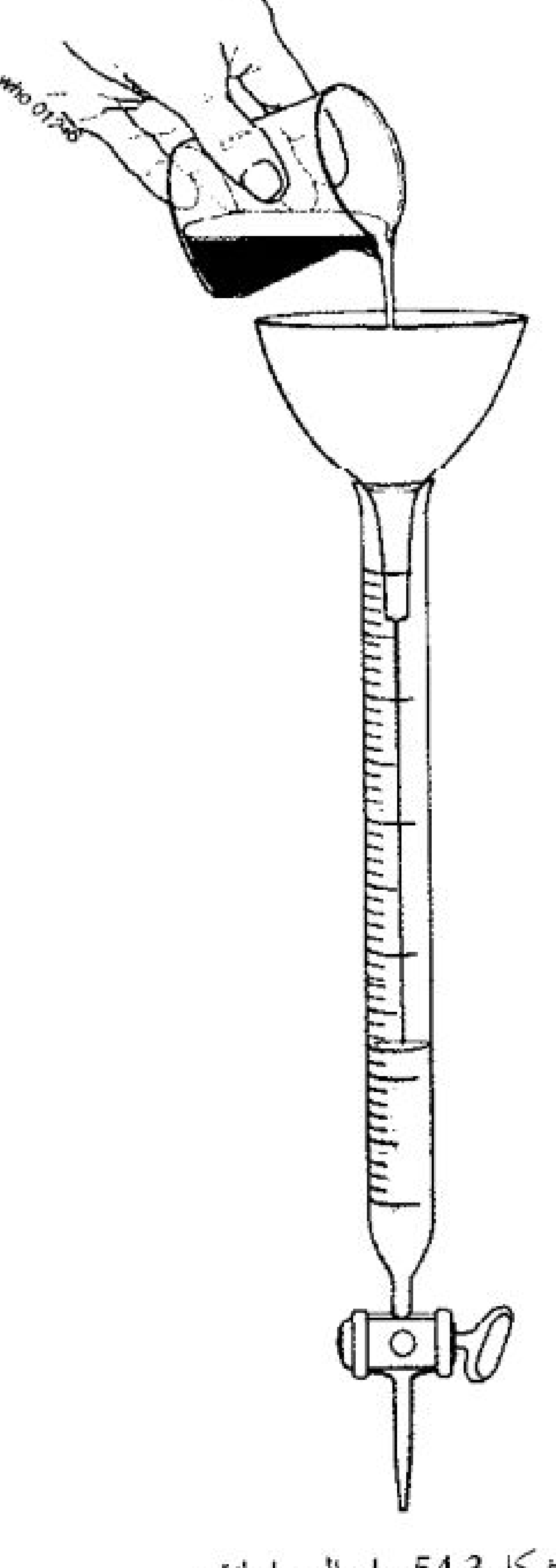
ينبغي أن يكون للحواجل الحجمية سِدادات من البلاستيك، وإذا لم تتوافر فتستعمل سدادات من الزجاج المُصَنْفَر، وينبغي الحرص على عدم ضياعها.

الثمن

إن الحواجل الحجمية غالية جداً ولذلك ينبغي استعمالها بحيطة بالغة.

3.4.3 السَّحَّاحات Burettes

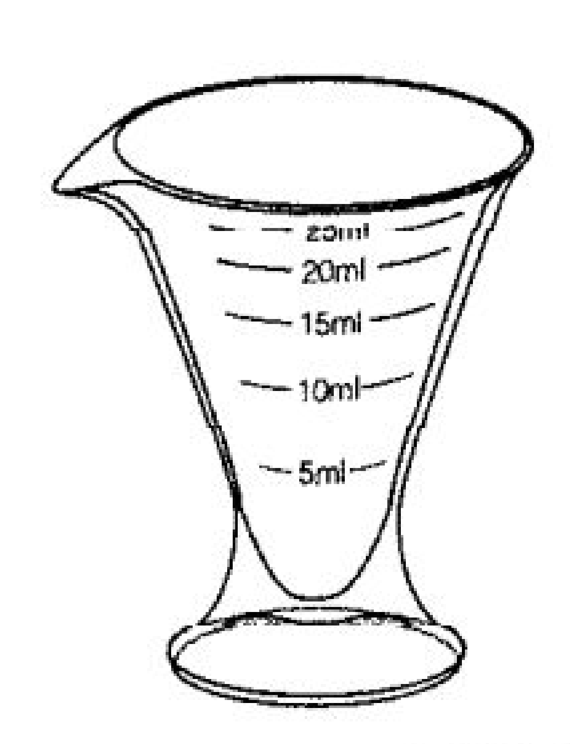
السحاحات أنابيب زجاجية مدرجة، ولها من أسفلها حنفية زجاجية، وهي تُملأ من أعلاها بالسائل المراد قياسه (الشكل 54.3) ويمكن لها أن تكون من سعة 10مل أو 20 مل أو 25 مل أو 50مل.



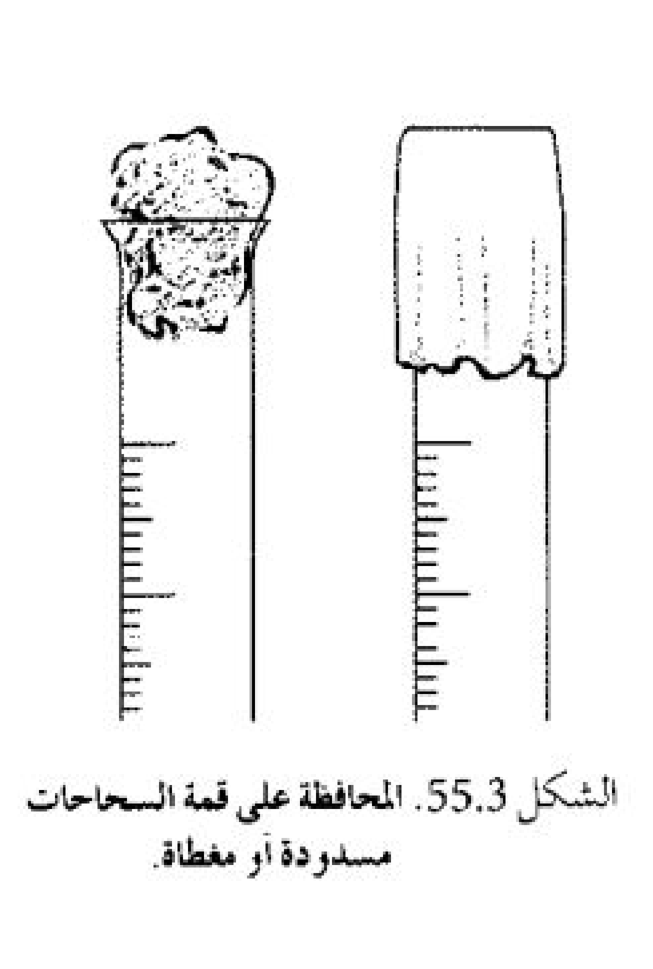
الشكل 54.3. ملء السحاحات.

صيانة السحاحات

ينبغي المحافظة على الحنفية والصنبور مُشَحَّمَيْن جيداً. ولتشحيم الحنفية ينبغي أن تُنَظَّف جيداً قبل كل شيء ثم تُطَبَّق عليها لطاخة رقيقة من الوَذَلين (هلام البترول) بواسطة رأس الإصبع على جانبيها بعيداً عن الثقب الشعري. ثم تُدْخَل الحنفية في السحاحة وتُدَوَّر إلى أن يتم التوصل إلى طلاء ناعم لكل الحنفية، ويُحافَظ على قمة السحاحة مسدودة أو مغطاة (الشكل 55.3).



الشكل 56.3. قدح اختبار مخروطي زجاجي مدرج.



الشكل 55.3. المحافظة على قمة السحاحات مسدودة أو مغطاة.

4.4.3 الأقداح المخروطية المُدَرَّجة (الشكل 56.3)

وهي ليست ذات دقة شديدة، ولذلك ينبغي اجتناب استعمالها في الفحوص المختبرية.

5.3 التنظيف والتطهير والتعقيم

1.5.3 تنظيف الزجاجيات والمحاقن والإبر القابلة لإعادة الاستعمال

تعليمات التنظيف:

- الأواني الزجاجية (حواجل إيرلنماير، الدوارق، أنابيب الاختبار).
- الممصات.
- الشرائح المجهرية.
- السواتر.
- المحاقن والإبر القابلة لإعادة الاستعمال.

الأواني الزجاجية

الزجاجيات الجديدة

الزجاجيات التي لم تستعمل من قبل هي قلوية بعض الشيء.

ومن أجل استعدالها:

- يُهَيَّأ حوض يحتوي 3 أُلتار من الماء و60 مل من حمض الهيدروكلوريك المركز (أي محلول الحمض بتركيز 2%).
- تُتْرَك الزجاجيات الجديدة غاطسة بتمامها في هذا المحلول مدة 24 ساعة.
- تُشْطَف الزجاجيات بعدئذ مرتين بالماء العادي ثم مرة بالماء المُزال المعادن.
- تُجَفَّف.

الزجاجيات القذرة

الشطف التمهيدي

تُغسل مرتين في الماء البارد أو الفاتر (وإياك أن تشطف الأنابيب الملطخة بالدم في الماء الساخن).
أما الزجاجيات المُستعمَلة لاحتواء سوائل تحتوي على البروتين فلا يجوز تركها لتجف قبل أن تشطف أولاً ثم تُغسَل.

النقع في محلول منظف

يُهيأ حوض مملوء بماء ممزوج مع مسحوق الغسيل أو مع سائل منظف، وتوضع الزجاجيات في الحوض ويُفرَجَن داخل الأواني بفرشاة أنابيب الاختبار (الشكل 57.3)، ثم تُترَك منقوعة 2–3 ساعات.

الشطف

تُستخرج الأدوات واحدة فواحدة وتُشطَف كل منها شطفاً جيداً تحت الحنفية، ثم تنقع جميعاً في حوض يحتوي على الماء العادي مدة 30 دقيقة.

تشطف كل أداة في تيار من الماء النظيف. (لا تَنْسَ أن بقاء آثار من المنظف على الزجاجيات قد يؤدي إلى نتائج مختبرية كاذبة).

النزح

تُعلّق الأواني (الدوارق، المراجل، الاسطوانات المدرجة) على أوتاد نازح جداري، وتُوضَع الأنابيب مقلوبة في سلة من الأسلاك الشبكية.

التجفيف

تُوضَع الزجاجيات في سلال من الأسلاك الشبكية وتجفف في فرن الهواء الساخن بدرجة 60 م؛ أو تُوضَع السلال في بقعة مُشْمِسَة في المختبر وتُستَر بقماش رقيق.

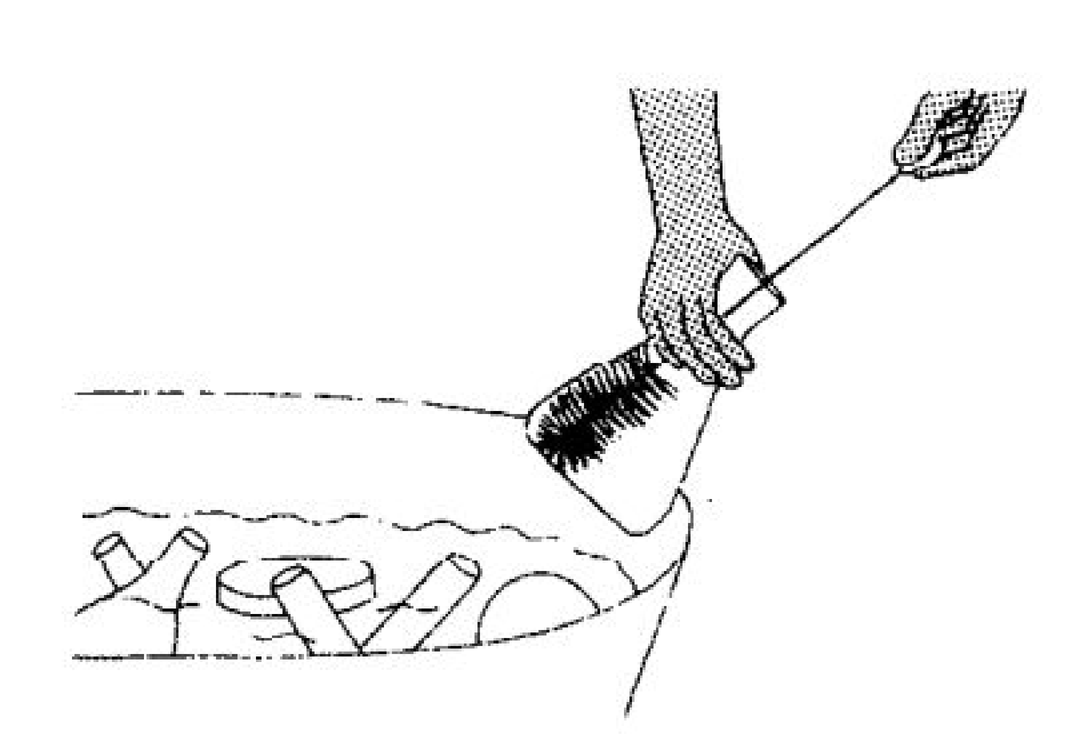
سد الزجاجيات

إن الزجاجيات النظيفة الجافة ينبغي أن تُوضَع على حافة في خزانة تحفظها من الغبار، كما يُوصَى بسد هذه الأواني بالقطن غير الماص أو تستر فوهاتها بقَلانِس صغيرة تُعْمَل من ورق الجرائد (الشكل 58.3) والأفضل بقطع رقيقة من شمع البرافين أو البلاستيك اللصوقة إن توافرا.

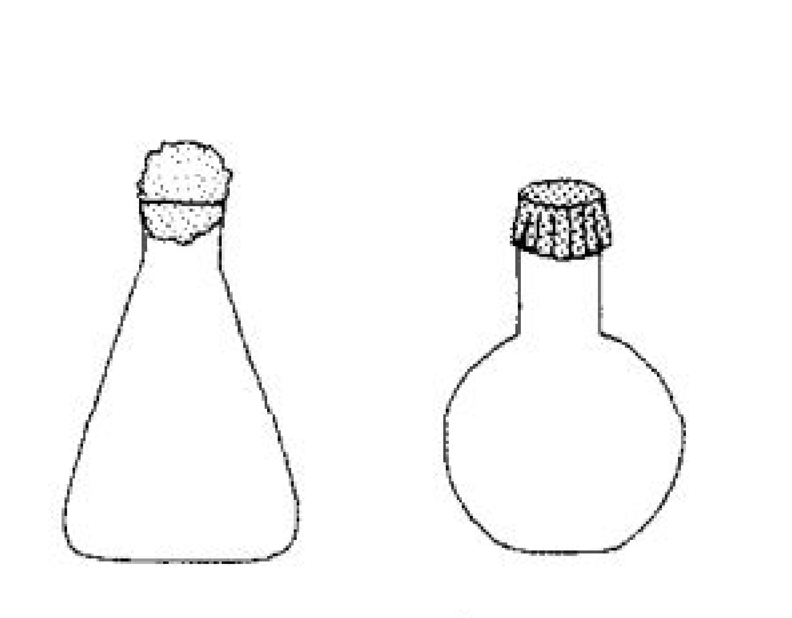
الممصات

الشطف الفوري

بمجرد أن يُستعمَل الممص ينبغي أن يُغسَل على الفور في تيار من الماء البارد لتخليصه مما فيه من دم أو بول أو مصل أو كاشف أو ما إلى ذلك.



الشكل 57.3. تنظيف الزجاجيات القذرة.



الشكل 58.3. سد أو تغطية الزجاجيات لحمايتها من الغبار.

النقع في الماء

بعد الشطف تُوضَع الممصات في مِخبار مُدَرَّج (أو حوض) كبير من البلاستيك مملوء بالماء، وإذا كانت الممصات قد استُعمِلَت لقياس سوائل مَغذِية فإنها تُترَك في مخبار مملوء بمحلول مطهر (أحد المركبات الأمونيومية الرباعية أو محلول قاصر أي مُبَيِّض 1%؛ انظر ص 84 و 85) مدة 4 ساعات.

النقع في منظف والشطف

تُتَّبع التعليمات التي سبق ذكرها حول نقع وشطف زجاجيات المختبر.

الممصات المسدودة

1. تُوضَع الممصات المسدودة في خبار مليء بمحلول الديكرومات المنظف (الكاشف رقم 20)، وتُزْلَق بعناية في هذا المحلول ثم تُترك 24 ساعة.
2. في اليوم التالي يُسْكَب محلول الديكرومات في مخبار آخر (يمكن تكرار استعماله أربع مرات).
3. يُمْسَك المخبار المحتوي على الممصات تحت الصنبور وتُشطَف الممصات جيداً.
4. تُسْحَب الممصات واحداً فواحداً، ويتم التحقق من زوال الانسداد منها، ثم تُشطَف ثانية.
5. تُترَك منقوعة في الماء العادي مدة ثلاثين 30 دقيقة ثم يعاد نقعها في الماء النظيف مدة 30 دقيقة.

تحذير: إن محلول الديكرومات المنظف مادة أكّالَة (كاوية) جداً ويجب استعمالها بعناية بالغة، فإذا حدث أن تطاير بعضه على الجلد أو العين (العينين) أو الملابس فينبغي أن يُغسَل فوراً بكميات كبيرة من الماء.

التجفيف

تُجَفَّف الممصات الزجاجية المقاومة للحرارة في فرن الهواء الساخن بدرجة 60 س أما الممصات العادية فتُجفف في الحاضنة بدرجة 37 س؛ أو بدلاً من ذلك تُتْرَك الممصات لتجف في الهواء.

استعمال المُخَلِّيَة Vacuum pump

هذه أداة صغيرة سريعة العطب من المعدن أو البلاستيك أو الزجاج تُوصَل بصنبور الماء.

1. يُفْتَح صبور الماء بقوة لإعطاء تيار قوي من الماء خلال المضخة المُخَلِّية، ويؤدي ذلك إلى مص الهواء من خلال الذراع الجانبية للمضخة ثم من خلال الأنبوب المطاطي الموصول بها.
2. يُوصَل الأنبوب المطاطي برأس الممص.
3. تُغْمَس النهاية الثانية من الممص في سائل الشطف (الماء أو المحلول المنظف) الذي يُسحَب من خلال الممص ثم يُفْرَغ من خلال المضخة إلى المغسلة (الشكل 59.3).

الشرائح المجهرية

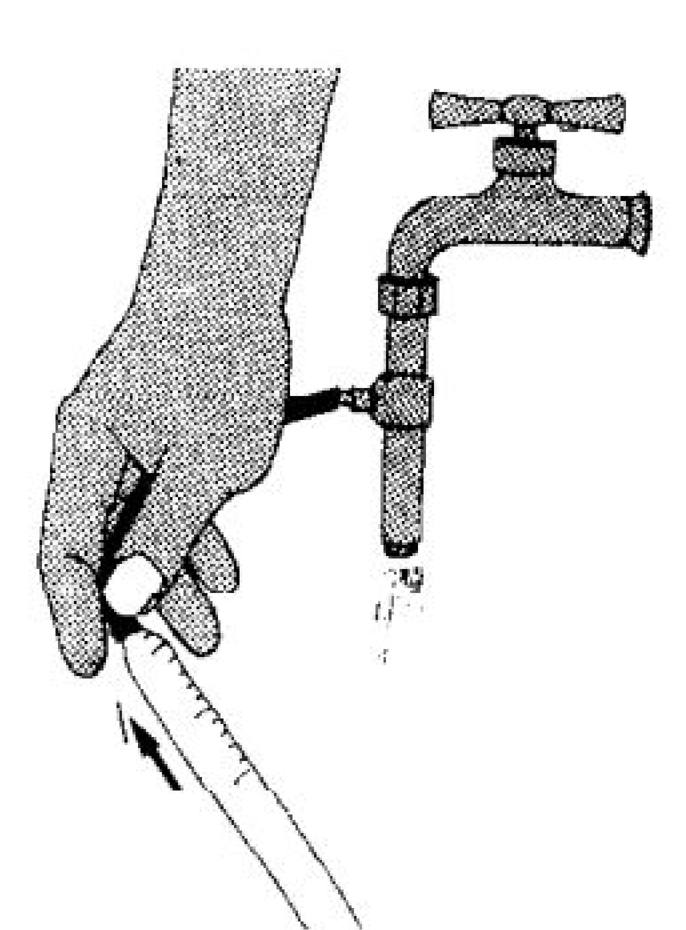
الشرائح الجديدة

النقع في المحلول المنظف

يُهَيَّأ حوض من الماء يحتوي على مسحوق أو سائل منظف، ويُسْتَعمل مقدار المنظف الذي يوصى به المعمل الصانع. تُوضَع الشرائح في الحوض واحدة فواحدة ثم تُترَك منقوعة فيه طوال الليل.

الشطف في الماء

تُشطَف كل شريحة بماء الصنبور ثم تُنْقَع في الماء النظيف مدة 15 دقيقة



الشكل 59.3. **شطف الممص باستعمال مُخَلِّيَة.**

المسح والتجفيف

تُمْسَح الشرائح واحدة فواحدة بقماش ناعم خال من الزغب، ثم تُوضَع على صحيفة من ورق الترشيح واحدة فواحدة وتُترَك لتجف، ثم تُفحَص كل شريحة على حدة وتُرْمَى الشرائح التي تكون ملطخة أو مُخَدَّشة أو صفراء أو مبقعة.

رزم الشرائح

تُقسم الشرائح إلى مجموعات تحتوي كل منها على عشر أو عشرين ثم تُرْزَم في صحائف صغيرة من الورق.

الترقيم

في بعض المختبرات تُرَقَّم الشرائح بالتسلسل قبل أن تُرْزَم في خمس رزم وذلك بالقلم الماسي. (فمثلاً بالنسبة إلى الرزم التي يحتوي كل منها على 20 شريحة، تكون الشرائح مرقمة:
1–20، 21–40، 41–60، 61–80، 81–100، على التوالي).

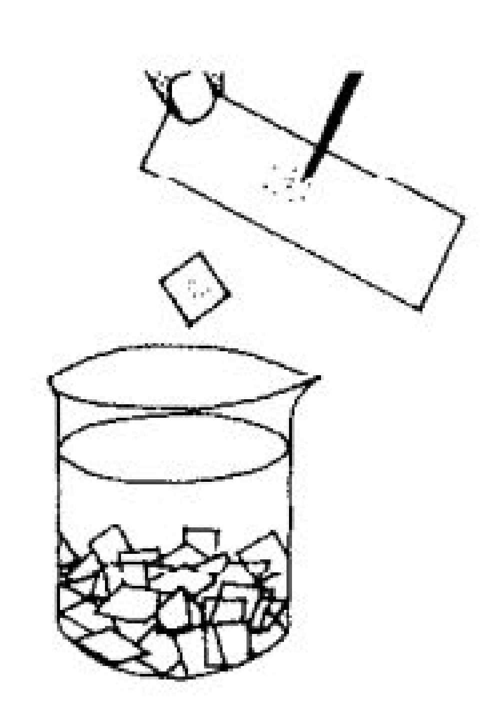
الشرائح المقذرة

الشرائح المغطاة بزيت الغطس

تُؤخذ الشرائح المغطاة بالزيت واحدة فواحدة وتُفْرَك بورق الجرائد لإزالة أكثر ما يمكن من الزيت.

الشرائح ذوات السواتر

يُستعمَل رأس إبرة أو ملقط لفصل السواتر عن الشرائح وإسقاطها في دورق من الماء (الشكل 60.3) (لتنظيف السواتر).



الشكل 60.3. نزع السواتر عن الشرائح لتنظيفها.

النقع في محلول منظف

يُهيأ حوض يحتوي على ماء بارد أو فاتر ممزوج بمنظف. ويُستعمل المقدار الذي يوصي به المعمل الصانع لتحضير محلول منظف قوي (مُرَكَّز).

تُنْقَع الشرائح فيه لمدة 24 ساعة.

ملاحظة: إن المنظفات المحتوية على الإنزيمات ممتازة للتخلص من الأفلام الدموية.

إذا كانت الشرائح قد استعملت لنماذج مُعْدِيَة (مثل البول أو البراز) فيجب وضعها في محلول مُطَهِّر قبل تنظيفها.

التنظيف

بعد نقع الشرائح لمدة 24 ساعة، يُهَيَّأ حوض آخر يحتوي على محلول منظف ضعيف (15 مل من منظف منزلي لكل لتر من الماء).

تُؤخَذ الشرائح واحدة فواحدة من المحلول المنظف القوي. تُفْرَك كل منها بقطنة مغموسة في المحلول المنظف القوي، ثم تُلْقَى في حوض المنظف الضعيف وتُترَك منقوعة 1–2 ساعة.

الشطف

الطريقة المفضلة:

تُؤخذ الشرائح واحدة فواحدة من المحلول المنظف الضعيف باستعمال الملقط، وعند الاضطرار لاستعمال الأصابع فيجب أن تُمْسَك الشرائح من حوافيها، ثم تُشْطَف كلٌّ على حدة تحت الحنفية، ثم تُنقَع 30 دقيقة في حوض من الماء.

الطريقة السريعة:

يُفْرَغ الحوض من المحلول المنظف الضعيف ويُملأ بماء نظيف، يجري تبديله ثلاث مرات مع رج الحوض بشدة في كل مرة.

المسح والتجفيف والرزم

تتبع التعليمات التي تقدم ذكرها للشرائح الجديدة.

السواتر

من الممكن تنظيف السواتر المستعملة وإعادة استعمالها :

1. يُهَيَّأ المحلول التالي في دورق كبير:
   - 200 مل من الماء.
   - 3 مل من المنظف.
   - 15 مل من محلول قاصر bleach أو 5 مل من أحد المركبات الأمونيومية الرباعية المُطَهِّرَة (انظر ص 84-85).
2. توضع السواتر في الدورق واحدةً فواحدة.
3. تُترَك السواتر منقوعة 2-3 ساعات مع تحريكها بلطف من آن إلى آخر.
4. يُشطَف الدورق المحتوي على السواتر بماء الصنبور أربع مرات مع التحريك بلطف.
5. يُجرَى شطف أخير بالماء المزال المعادن.
6. تُستَنْضَب السواتر بقلبها بعناية على حَشِيَّة من الشاش.
7. تُجَفَّف في فرن الهواء الساخن بدرجة 60 س إن أمكن.
8. تُحْفَظ السواتر النظيفة الجافة في علبة بتري صغيرة؛ ويُستعمل -إن أمكن- ملقط خاص بالسواتر لاستخراجها.

المحاقن والإبر القابلة لإعادة الاستعمال

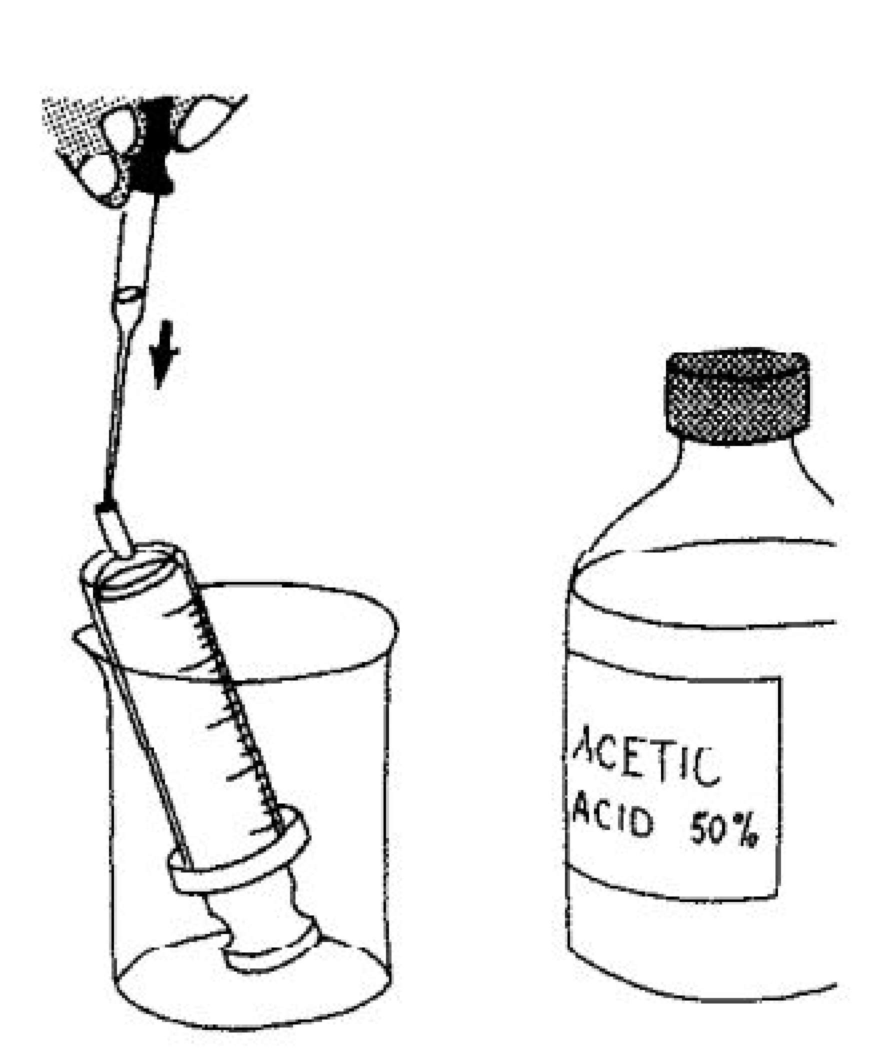
حالما تؤخذ العينة يستخرج المِكْبَس من المحقنة المستعملة ويُشطَف المكبس والماسورة كلٌّ على حدة، ثم تُملأ الماسورة بالماء ويُدْخَل فيها المكبس ويُقْسَر الماء على الخروج من خلال الإبرة، وأخيراً تُنْزَع الإبرة ويُشْطَف جوف محورها.

المحقنة التي استعصى فيها المكبس والقابلة لإعادة الاستعمال

من أجل لَخْلَخَة المكبس تُختار طريقة مما يلي:

- النقع لمدة ساعتين في ماء ساخن (حوالي 70 س).
- تُوقَف المحقنة على نهايتها والمكبس نحو الأسفل، ثم يُمَصّ محلول حمض الأسيتيك 50% (الكاشف رقم 3 ضمن بُزْباز المحقنة بواسطة ممص باستور نحيف (الشكل 61.3) وتترك لمدة 10 دقائق.

بعد لخلحة المكبس تُنْقَع المحقنة عدة ساعات في حوض يحتوي على بيروكسيد الهيدروجين (الماء الأكسيجيني) 0.001 مول/ل.



الشكل 61.3. تنظيف المحقنة المسدودة (المتكررة الاستعمال) باستخدام حمض الأسيتيك.

شطف الإبر ونقعها

حالما تُستعمَل الإبرة ينبغي أن تُشْطَف وهي لا تزال موصولة بالمحقنة، ثم تُنْزَع وتُتْرَك منقوعة في الماء الساخن.

الإبر المسدودة

يُستعمَل لإزالة الانسداد خيطٌ من النَّيْلون مغموساً في محلول حمض الأسيتيك 50% (الكاشف رقم 3)؛ وإلا فيمكن استعمال مِرْوَد.

2.5.3 تنظيف أواني النماذج غير النَّبوذة (متكررة الاستعمال)

يمكن أن تحتوي الأوعية غير النبوذة (كالحناجير والقوارير) على:

البراز، البلغم أو القشع، القيح، السائل النخاعي (الدماعي الشوكي)، الدم أو البول، وكلها يمكن أن يؤوي أحياء مُعْدِيَة بشكل كامِن.

أواني نماذج البراز

إذا كان المرحاض غير متصل بحوض للتطهير: تُملأ الحناجير المحتوية على البراز بمحلول الكريزول 5% (انظر ص 83) أو بمطهر مماثل، وتُترَك لمدة 6 ساعات ثم تُفرَغ في المرحاض.

إذا كان المرحاض متصلاً بحوض للتطهير: فلا يضاف الكريزول أو غيره من المطهرات الأخرى إلى البراز، وتُنَظَّف الحناجير بمحلول منظف وبالماء كما وُصِف في الصفحة 80.

علب البلغم أو القشع والأنابيب المحتوية على نماذج القيح والسائل النخاعي (الدماغي-الشوكي)

هنالك عدة طرق ممكنة:

استعمال الموصدة (جهاز التعقيم بالبخار المضغوط) (الفقرة 5.5.3)

هذه هي الطريقة المفضلة.

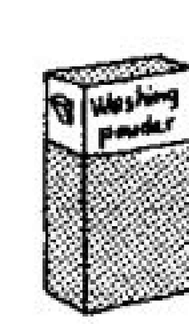
1. توضع الأواني في الموصدة وتعقم لمدة 30 دقيقة بدرجة 120س.
2. بعد أن تبرد تُفرَغ من محتوياتها في المغسلة أو المرحاض.
3. تُنظف بالماء والمنظف كما وُصِف في الصفحة 80.

الغلي في منظف

يُحتفَظ بمِغْلاة مخصصة لهذا الغرض.

تُغلَى علب القشع أو البلغم لمدة 30 دقيقة في ماء يحتوي على مسحوق الغسيل (60 غ باللتر من الماء) (الشكل 62.3).





الشكل 62.3. تنظيف علب البلغم أو القشع بالغلي في منظف.

باستعمال محلول الفورمالدهيد أو الكريزول

يُصَب في كل علبة قشع إما :

- 10 مل من محلول 10% الفورمالدهيد غير المُخَفَّف (الكاشف رقم 28) أو
- 5 مل من الكريزول 5% (انظر ص 83).

تترك لمدة 12 ساعة.

قوارير البول

تُفرَغ القوارير في المرحاض.

تُملأ هذه القوارير بـ:

- إما محلول 10% من القاصر التجاري (انظر ص 84) أو
- 5 مل من الكريزول 5% (انظر ص 83).

تترك لمدة 4 ساعات.

أنابيب الاختبار المحتوية على نماذج الدم

أنابيب الدم الطازج المأخوذ في نفس اليوم، ينبغي أن:

- تُشطَف بالماء البارد.
- تُترَك منقوعة في محلول منظف (انظر ص 80).

أنابيب الدم «القديم» المحفوظة عدة أيام في حرارة الغرفة حيث يمكن أن تكون الأحياء (الجراثيم) قد تكاثرت فيها، ينبغي أن:

- تُملأ بمحلول 10% من القاصر التجاري (انظر ص 84)
- تُترَك لمدة 12 ساعة ثم
- تُشْطَف وتُنَظَّف.

1. للمزيد من المعلومات راجع الفقرة 5.5.3

3.5.3 تنظيف وصيانة المعدات المختبرية الأخرى

المَنابِذ (انظر الفقرة 3.3.3)

يُنَظَّف تجويف المنبذة يومياً أو بعد حدوث أي تناثر، ويُستعمل الإيثانول 70% للتجاويف المعدنية ومحلول قاصر 1% (انظر ص 84) للتجاويف البلاستيكية. (لا يُستعمل القاصر للتجاويف المعدنية إذ أنه يمكن أن يسبب انتكالاً فيها).

تُشطَف دِلاء المنبذة بعد الاستعمال وتزال أي آثار للدم، الخ...

يتم التحقق من تمديدات الأسلاك لكشف التوصيلات المُنتسِلة والمرتخية بفترات منتظمة، وإذا كانت المنبذة تصدر شرراً أو تدور بشكل غير منتظم فقد تكون المِسْفَرات الكربونية **carbon brushes** بحاجة إلى استبدال.

ينبغي أن يجرى تشحيم المنبذة من قبل اختصاصي تبعاً لتعليمات الصانع.

الحمامات المائية

يُملأ الحمام المائي إذا أمكن بالماء المقطر أو ماء المطر لاتقاء تشكل الرواسب في داخله، كما أن وضع بلورة من الثمول يساعد في اتقاء نمو الطُحْلُب.

يُغَيَّر الماء وينظف داخل الحمام المائي مرةً على الأقل كل شهر أو كلما بدا قذراً. يُستعمل مقياس الحرارة للتحقق من حرارة الماء في كل مرة يُغَيَّر فيها الماء إذ قد يسبب عنصرُ التسخين خللَ وظيفة ناظم الحرارة.

الحاضنات

تُستعمل الحاضنات للزرع الجرثومي من قبل المختبرات التي تقوم بفحوص المكروبيولوجيا (الجرثوميات).

يجب المحافظة على حرارة وسطى ثابتة 35 س (المجال 33–37 س) ضمن الحاضنة، ويجب أن تتوافق الحرارة الفعلية مع ما يحدده ناظم الحرارة حين استعمال الأداة.

يجب أن يُحافَظ على تركيز ثنائي أكسيد الكربون 5–10 % ورطوبة 50–100 % في حاضنات ثنائي أكسيد الكربون المستعملة للزرع المكروبي.

يجب تصحيح الحرارة في الحاضنات يومياً؛ وينبغي -كشأن كل الأدوات المختبرية- تنظيف الحاضنات بفترات منتظمة (كل أسبوعين على الأقل)، وكذلك بعد تناثر أي مادة سواءً كانت مُعْدِية أم لا.

أنابيب وسترغرين

تُشطَف بالماء ثم تُترَك منقوعة في الماء النظيف لمدة 12 ساعة، وتُجفف تماماً (في حاضنة بحرارة 37 س إذا أمكن). ويجب عدم استعمال مسحوق الغسيل أو الحموض أو الإيثانول.

4.5.3 المُطَهِّرات disinfectants

توجد العديد من المطهرات التي تتصف بأفعال كيميائية مختلفة على العوامل المُعْدِيَة؛ ويبين الجدول 1.3 لائحة بالمطهرات الأكثر استعمالاً في المختبرات الصحية.

الكريزولات

يمكن أن تكون الكريزولات صلبة أو سائلة، وهي أقل ذوباناً في الماء من الفينول إلا أنه يمكن حفظ محلول مائي 5 % كمحلول خزين. تُسْتَحْلَب الكريزولات جيداً في المحاليل الصابونية.

الليزول

الليزول هو مستحلبٌ للكريزول 50% في محلول مائي صابوني، ويمكن أن يُسْتَبْدَل الفينول بالكريزول. ولكن نظراً لأن الفينول أقلُّ قدرةً على التطهير فإن زمن تعرض المادة لمحلول الفينول يجب أن يكون أطول منه للكريزول. تسبب محاليل الفينول والكريزول تهيجَ الجلد والعينين.

الجدول 1.3. المطهرات الشائعة الاستعمال

الشيء المقصود بالتطهير	المطهر	التخفيف الموصى به للتطهير (حجم/حجم)	أقل مدة للتطهير	المحضر المخزون للمطهر
الدم	الكريزول، محلول 5%	1:2	6 ساعات	المسحوق البلوري أو السائل
	محلول هيبوكلوريت الكالسيوم (الكلور المتوافر 1%)	1:2	6 ساعات	المسحوق
البراز	الكريزول، محلول 5%	1:2	6 ساعات	المسحوق البلوري أو السائل
	محلول هيبوكلوريت الكالسيوم أو الصوديوم (الكلور المتوافر 1%)	1:3	6 ساعات	المسحوق
	هيدروكسيد الكالسيوم، محلول 20%	1:2	6 ساعات	المسحوق
	الكلورامين (الكلور المتوافر 4%)	غير مُخَفَّف	6 ساعات	المسحوق
البول	الكريزول، محلول 5%	1:1	4 ساعات	المسحوق البلوري أو السائل
البلغم أو القشع	الكريزول، محلول 5%	1:1	4 ساعات	المسحوق البلوري أو السائل
الجلد	الكريزول، محلول 50%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	الكريزول 50% في محلول صابوني
	الإيثانول، محلول 80%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	محلول 95%
	اليود، محلول 1%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	محلول 5%
	البولي فيدون اليودي، محلول 1%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	نقي
	الإيزوبروبانول، محلول 70%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	نقي
	n-بروبانول، محلول 60%	غير مُخَفَّف	دقيقتان	نقي
	الكلورامين (الكلور المتوافر 1%)	غير مُخَفَّف	دقيقتان	مسحوق
	المركبات الأمونيومية الرباعية	غير مُخَفَّف	دقيقتان	محلول
الماء	الكلورامين، محلول 0.25%	غير مُخَفَّف	16 دقيقة	مسحوق
مناضد العمل	الكريزول، محلول 50%	غير مُخَفَّف	4 ساعات	الكريزول 50% في محلول صابوني
	الكريزول، محلول 5%	غير مُخَفَّف	4 ساعات	المسحوق البلوري أو السائل
	الكلورامين (الكلور المتوافر 5%)	غير مُخَفَّف	4 ساعات	مسحوق
	هيبوكلوريت الصوديوم (الكلور المتوافر 1%)	غير مُخَفَّف	4 ساعات	مسحوق
المعدات المختبرية[أ]	هيبوكلوريت الصوديوم (الكلور المتوافر 0.1%)	غير مُخَفَّف	4 ساعات	محلول 5%، 10%، 15%
الزجاجيات[أ]	هيبوكلوريت الصوديوم (الكلور المتوافر 1%)	غير مُخَفَّف	12 ساعة	محلول 5%، 10%، 15%

أ. يجب ألا يستعمل التطهير الكيميائي للأدوات القاطعة للجلد والباضعة إلا كملاذ أخير، إذا لم يكن التعقيم ولا التطهير الرفيع المستوى بالغلي ممكناً، وفوق ذلك فقط إذا كان بالإمكان ضمانُ التركيز والفعالية الملائمين للمادة الكيميائية (المطهر) وإذا كانت الأدوات قد نُظِّفَت جيداً لإزالة التلوث العياني قبل النقع في المطهر الكيميائي.

هيبوكلوريت الصوديوم والكالسيوم

محاليل هيبوكلوريت الصوديوم والكالسيوم (قاصرات منزلية) هي مطهرات قوية جداً، وتستعمل في العديد من التطبيقات المختبرية والمنزلية والصناعية. تَتَعَطَّل مركبات الهيبوكلوريت بسرعة بجزيئات الغبار والمواد العضوية ويجب أن تحضر بشكل طازج من محاليل خزينة كل يوم. وتسبب مركبات الهيبوكلوريت تهيج الجلد والعينين والرئتين.

ويجب أن تحوي المحاليل القوية غير المُخَفَّفَة على الكلور متوافراً بنسبة 10%.

ولتحضير المحاليل الشَّغَّالَة يوصى بالتخفيفات dilutions التالية:

- للحناجير والأواني التي تُطْرَح فيها الممصات والشرائح المستعملة ولمسح سطوح مناضد العمل: 10 مل من محلول الهيبوكلوريت المركز في 990 مل من الماء (الكلور المتوافر 0.1%). توضع الزجاجيات المستعملة في الحناجير والأواني المحتوية على محلول الهيبوكلوريت وتُتْرَك 12 ساعة على الأقل، ويجب ألا تُطْفَح هذه الأواني كما ينبغي تغيير محتواها يومياً.

- لإزالة التلوث بالدم المُراق والنماذج الأخرى ذات المحتوى البروتيني المرتفع: 40 مل من محلول الهيبوكلوريت المركز في 360 مل من الماء (الكلور المتوافر 1%).

إن محاليل الهيبوكلوريت القوية آكّالة (كاوية) corrosive ويمكن أن تسبب حروقاً، ولذا تُعامَل محاليل القاصر بعناية: تُلْبَس قفازات مطاطية لحماية اليدين وحجاب واقٍ للعينين لاتقاء التطاير والتناثر فيهما.
يتوافر هيبوكلوريت الكالسيوم في شكله الصلب كمسحوق أو حبيبات، وهو يتفكك بمعدل أبطأ من هيبوكلوريت الصوديوم؛ ويتم الحصول على محلول يتوافر فيه الكلور بنسبة 1% بحل 14 غ من هيبوكلوريت الكالسيوم في لتر واحد من الماء.

الكلورامين

يجب ألا يُستعمل التطهير الكيميائي للأدوات القاطعة للجلد والباضِعة إلا كملاذ أخير، إذا لم يكن التعقيم ولا التطهير الرفيع المستوى بالغلي ممكناً، وفوق ذلك فقط إذا كان بالإمكان ضمانُ التركيز والفعالية الملائمين للمادة الكيميائية (المطهر) وإذا كانت الأدوات قد نُظّفَت جيداً لإزالة التلوث العياني قبل النقع في المطهر الكيميائي.
الكلورامين هو مسحوق بلوري يُطْلِق -كمركبات الهيبوكلوريت- الكلورَ كعامل مطهر فعال وإن يكن ذلك يتم بمعدل أبطأ. ويُستعمل أيضاً لتطهير الماء: تركيز الماء المُكَلْوَر 0.05% من الكلورامين. ويجب الانتباه إلى أن الماء المكلور يمكنه التداخل مع الاختبارات المختبرية، ويجب لذلك استعمال الماء المقطر.

هيدروكسيد الكالسيوم

يُحَضَّر محلول هيدروكسيد الكالسيوم من مسحوق أو حبيبات الكلس الحي (أكسيد الكالسيوم) المحلولة في الماء (جزء واحد:3 أجزاء وزن/حجم). محلول هيدروكسيد الكالسيوم غير مناسب لتطهير البراز المأخوذ من مرضى السل.

المركبات الأمونيومية الرباعية (QUATS)

المركبات الأمونيومية الرباعية فَعّالة ضد الجراثيم النباتية وبعض الفُطْرِيّات، وغير فعالة ضد الأبواغ والفيروسات والمتفطرات؛ وهي غير سامة وغير مؤذية للجلد.

الكحولات

الكحولات (مثل الإيثانول، الإيزوبروبانول، n-بروبانول) مطهرات سريعة التأثير، ولكنها مرتفعة الثمن نسبياً تُستعمل عادةً لتطهير الجلد، وهي تقتل الجراثيم وبعض الفيروسات ولكنها لا تقتل الفُطْرِيّات.

اليود

اليود مطهر ممتاز سريع التأثير يمتد فعله إلى مجالات واسعة، وهو يقتل الجراثيم والعديد من الأبواغ والفيروسات والفُطْرِيّات؛ كما أنه في الحرارة المنخفضة أكثر فعالية من المطهرات الأخرى. بعض الناس مفرطو التحسس تجاه اليود ويعانون من طفح على مناطق الجلد التي تعرضت لمحلول اليود، ولكن حساسيتهم تكون أقل كثيراً عندما تُسْتَعْمَل حاملات اليود (محاليل بَلْمَرات polymer solutions تربط اليود) كالبولي فيدون اليودي.

5.5.3 التعقيم sterilization

يُعَرَّف التعقيم بأنه تخريب كل المكروبات الموجودة في أو حول الشيء الذي نريد تعقيمه. ويُنْجَز التعقيم في المختبر الطبي إما بالحرارة الرطبة (الموصدة، الغلي) أو بالحرارة الجافة (فرن الهواء الساخن،التلهيب).
وقد جرت العادة أن تُعَقَّم المواد في المختبر الطبي من أجل ثلاثة أهداف:

- التحضير لأخذ النماذج (فالإبر، والمحاقن، والأنابيب، الخ.... ينبغي أن تكون عقيمة)؛
- تطهير المواد الملوثة؛
- تحضير المعدات المستعملة للزروع الجرثومية (علب بتري، ممصات باستور، أنابيب،...).

التعقيم بالبخار

استعمال المُوَصَدَة (جهاز تعقيم بالبخار المضغوط) autoclave

توضع العينات السريرية والفضلات الملوثة الأخرى في وعاء موصدة خاص أو ضمن دلو معدنية أو بلاستيكية للتعقيم بالموصدة، وتستعمل مشعرات التعقيم بالموصدة لمراقبة دورة التعقيم.

المبدأ

يُسَخَّن الماء في وعاء مُغْلَق ويُنْتِج ذلك بخاراً مشبعاً تحت الضغط حرارته فوق 100س. وتُقْتَل كل أنماط المكروبات بما فيها كافة الجراثيم (ولكن ليس كافة الفيروسات) عندما يُسَخَّن الجهاز لمدة 20 دقيقة بحرارة 120س في هذا البخار تحت الضغط.

مكونات الموصدة (التشكل 63.3)

1. المِرْجَل:

أسطوانة كبيرة عميقة، تُوضَع فيها الأدوات المُراد تعقيمها.

2. السَّلَّة:

سلة كبيرة من الأسلاك الشبكية تحمل المراد المراد تعقيمها.

3. مَنْصَب السلة:

منصب في قاع الموصدة لرفع السله فوق مستوى سطح الماء.

4. صُنْبور النَّزح:

صنبور مركب في قاع المرجل ينزح الماء الزائد.

5. الغطاء:

غطاء يغطي ويُحْكِم سَدَّ المرجل ويكون تحته حلقة مطاطية.

6. ملاقط الغطاء:

هذه الملاقط مع الحلقة المطاطية تضمن إحكام الغطاء وتمنع البخار من الإفلات.

7. صمام خروج الهواء:

صمام في قمة المرجل أو على الغطاء يُستعمل للسماح بخروج الهواء عند بدء تسخين الماء.

8. صمام الأمن أو السلامة:

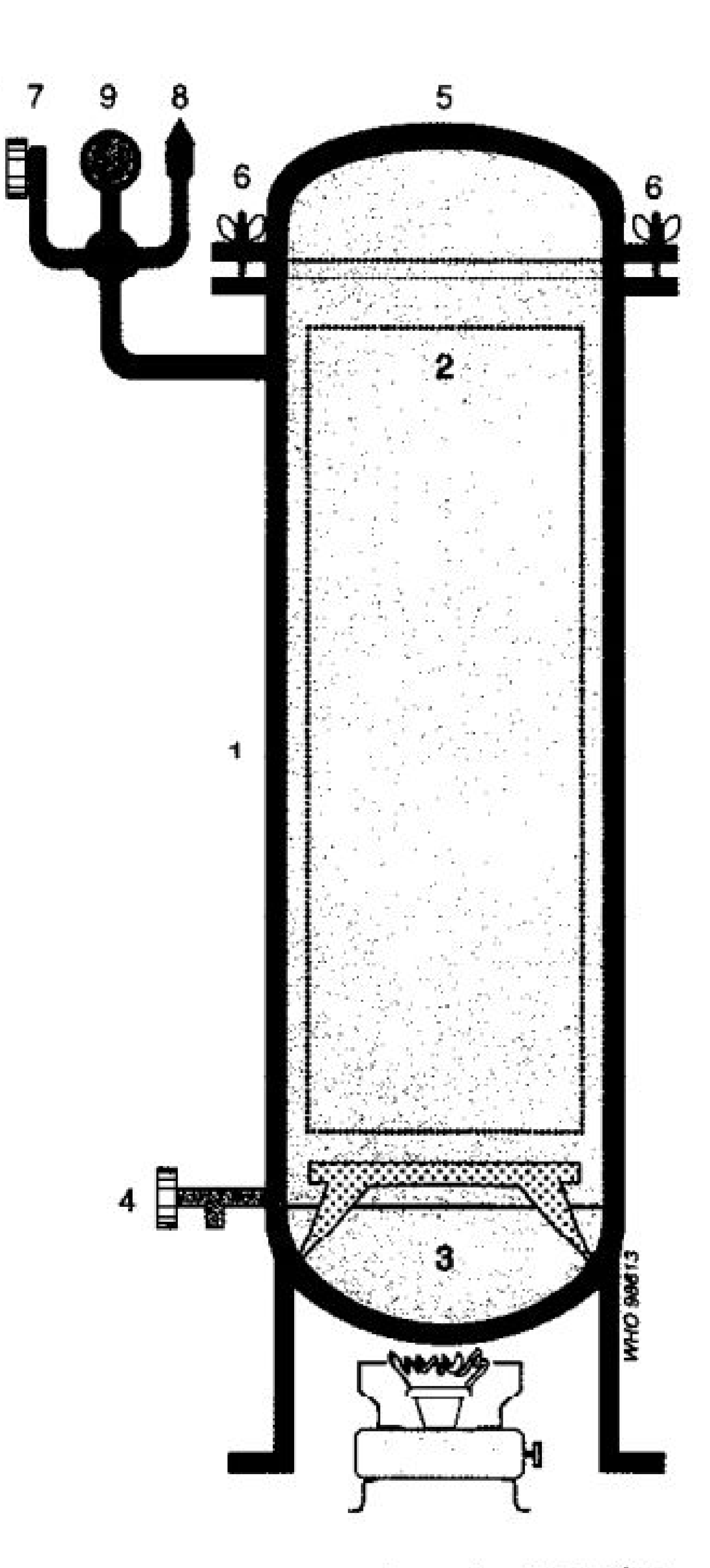
صمام في قمة المرجل أو على الغطاء يسمح للبخار بالإفلات إذا أصبح الضغط مرتفعاً جداً وبذلك يمنع انفجار الموصدة .

9. مقياس الحرارة أو مقياس الضغط:

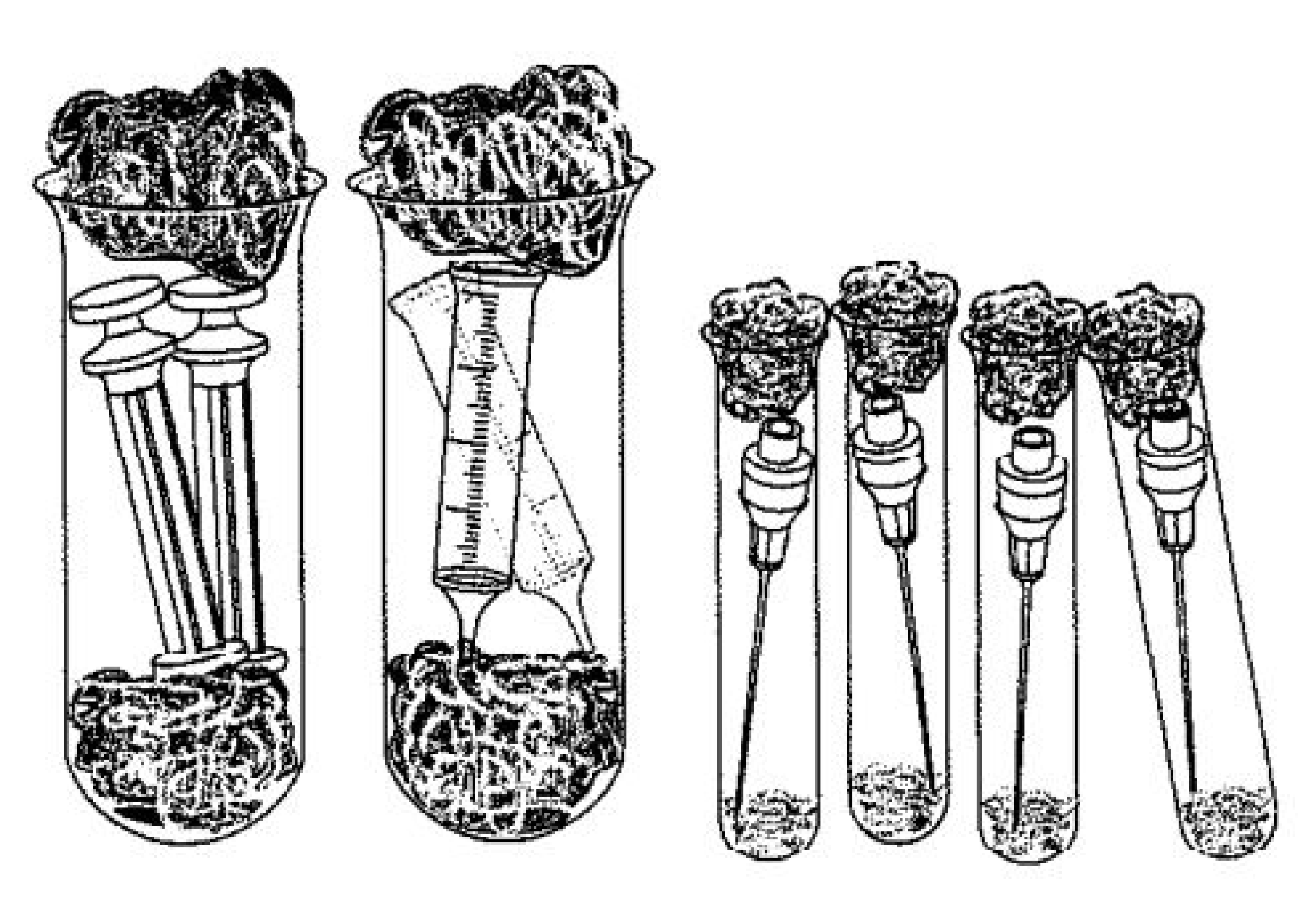
كل المقاييس تدل على الحرارة بدرجات سلزيوس (س = م)، وبعضها توجد عليه أيضاً مجموعة أخرى من الأرقام تدل على الضغط.

يمكن أن تكون جملة التسخين مندرجةً ضمن الموصدة على شكل:

- عناصر كهربائية.
- مَلاهِب غازية.
- سخان بزيت البارافين.



الشكل 63.3. مكونات الموصدة:
1: المرجل؛ 2: السلة؛ 3: منصب السلة؛ 4: صنبور النزح؛ 5: الغطاء؛ 6: ملازم الغطاء؛ 7: صمام خروج الهواء؛ 8: صمام الأمان؛ 9: مقياس الحرارة أو مقياس الضغط.



الشكل 64.3. وضع الإبر والمحاقن في الموصدة.

النَّصْب والتركيب

تُحدِث الموصدات ضجيجاً ولذلك من المفضل أن توضع بعيداً عن منطقة العمل الرئيسية، وإذا استعمل الغاز أو سَخّان بزيت البارافين للتسخين فيجب حفظها بعيداً عن المواد والكيماويات اللهوبَة.

تهيئة المواد للتعقيم

المحاقن المتكررة الاستعمال :

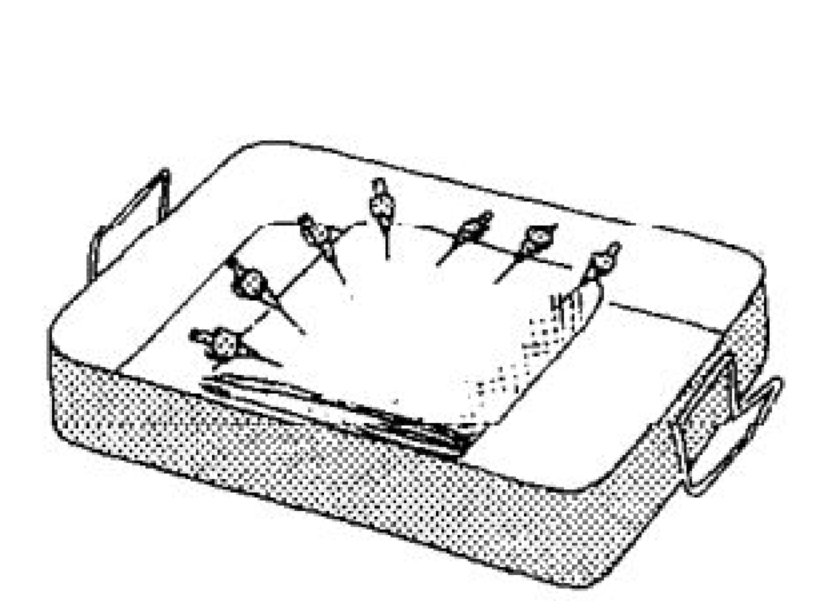
توضع كل محقنة في أنبوب اختبار كبير من الزجاج مسدود بالقطن غير الماص (مع وضع كل من المكبس والماسورة على حِدَة؛ الشكل 64.3)، أو أنها تُلَفّ بالشاش وتوضع في صواني معدنية.

الإبر المتكررة الاستعمال :

الأفضل أن توضع الإبر، كلٌّ على حدة، في أنابيب اختبار صغيرة ثم تُسَدّ (انظر: الشكل 64.3)، على أن توضع وسادة من القطن غير الماص في قاع كل أنبوب لحماية رأس الإبرة.

وإلا فيمكن ترتيب الإبر في صينية معدنية مع جعل رؤوسها تَنْغَرِز في وسادة من الشاش المطوى (الشكل 65.3).

وتوضع الصواني المعدنية مكشوفة الغطاء في الموصدة.



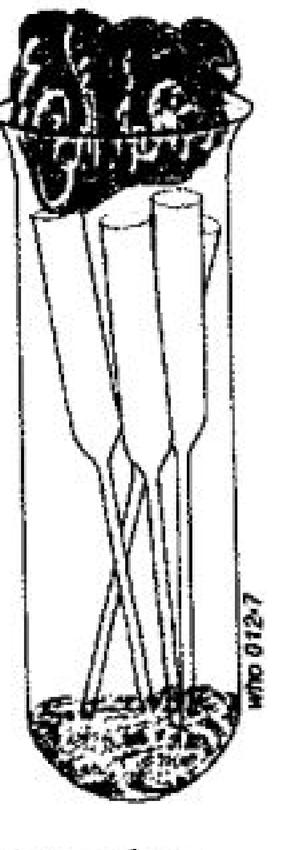
الشكل 65.3. الطريقة البديلة لوضع الإبر في الموصدة.

الزجاجيات:

يجب أن تُلَفّ أنابيب النماذج، وعلب بتري، الخ.... في أكياس من البولي إيثيلين قابلة للتعقيم بالموصدة وأن تُرْبَط بخيط.

مصات باستور (الشكل 66.3):

يجب أن توضع مصات باستور في أنابيب كبيرة تُسَدُّ؛ أو أن توضع في أكياس من البولي إيثيلين قابلة للتعقيم بالموصدة.



الشكل 66.3. وضع مصات باستور في الموصدة.

إجراءات التعقيم

1. يُملأ قاع الموصدة بالماء (حتى ارتفاع منصب السلة)، مع التأكد من أن الماء لا يُلامِس السلة، فإذا لزِم الأمر يُنْزَح الماء الزائد بفتح صنبور النزح.
2. تُوضَع السلة المحتوية على المواد المراد تعقيمها في الموصدة معاً مع الأوراق المشعرة للتعقيم، هذه الأوراق التي تنقلب إلى اللون الأسود عندما يتم الوصول إلى الحرارة الصحيحة.

3. يُغلَق الغطاء مع التأكد من أن الحلقة المطاطية موجودة في ميزابتها، ثم تُلَوْلَب ملازِم الغطاء بتوازن وإحكام ولكن لا تُشَدّ كثيراً.
4. يفتح صمام خروج الهواء.
5. يُبْدَأ بتسخين الموصدة.
6. يُراقَب صمام خروج الهواء حتى يخرج منه تيار نَفّاث من البخار. يُنْتَظَر ثلاث أو أربع دقائق حتى يُصبح تيار البخار هذا متجانساً ومستمراً، ويدل ذلك على أن كل الهواء قد طُرِد من الموصدة.
7. يُغْلَق صمام خروج الهواء، ثم تُشَدّ ملازم الغطاء ويُنْقَص التسخين بعض الشيء.
8. يراقَب مقياس الحرارة فعندما يتم الوصول إلى الحرارة المطلوبة (أي 120 م) فإن السخين ينبغي أن يُنَظَّم للمحافظة عليه. يخفض التسخين حتى تبقى الإبرة دالة على الحرارة المطلوبة. يبدأ التوقيت في هذه النقطة.

أزمنة التعقيم:

- المواد المستعملة في جمع النماذج المتكررة الاستعمال (المحاقن، الإبر، الأنابيب): 20 دقيقة بدرجة 120 س.
- أواني المواد المُعْدِيَة (حناجير البلغم أو القشع، أنابيب القيح): 30 دقيقة بدرجة 120 س.
- المستنبتات الباكتريولوجية (الجرثومية). تُتَّبع تعليمات الاختصاصي بالجراثيم أو رئيس تقنيي المختبر.

إيقاف التسخين

1. يوقف التسخين بمجرد بلوغ الوقت اللازم.
2. يُنْتَظَر هبوط الحرارة إلى ما تحت الدرجة 100 س، ثم يفتح صمام خروج الهواء لجعل الضغط متساوياً في داخل الموصدة وخارجها.
3. عندما يتوقف صوت الهَسيس تُفَكّ لوالب أو ملازم الغطاء، ثم يُفْتَح الغطاء ويُتْرَك ما في الموصدة لبرد، ثم تُرْفَع السلة المحتوية على المعدات المعقمة بعناية. وإذا تشكلت قُطَيْرات من الماء تُجَفَّف المعدات المعقمة في الحاضنة في الدرجة 37 س إن أمكن.

التنظيف

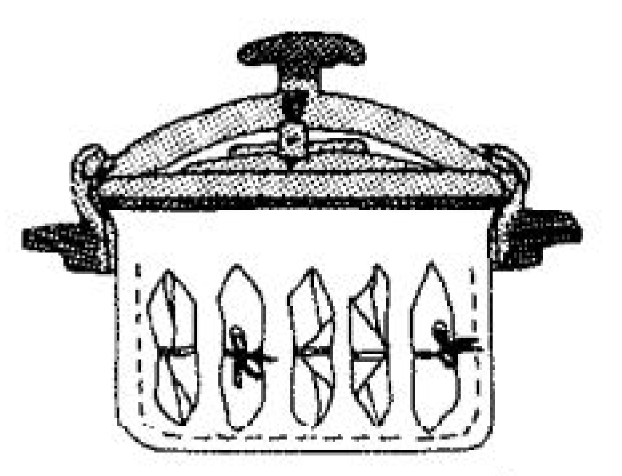
يُمْسَح باطن الموصدة يومياً أو كلما حدث تناثر للمحافظة عليها نظيفةً.

احتياطات

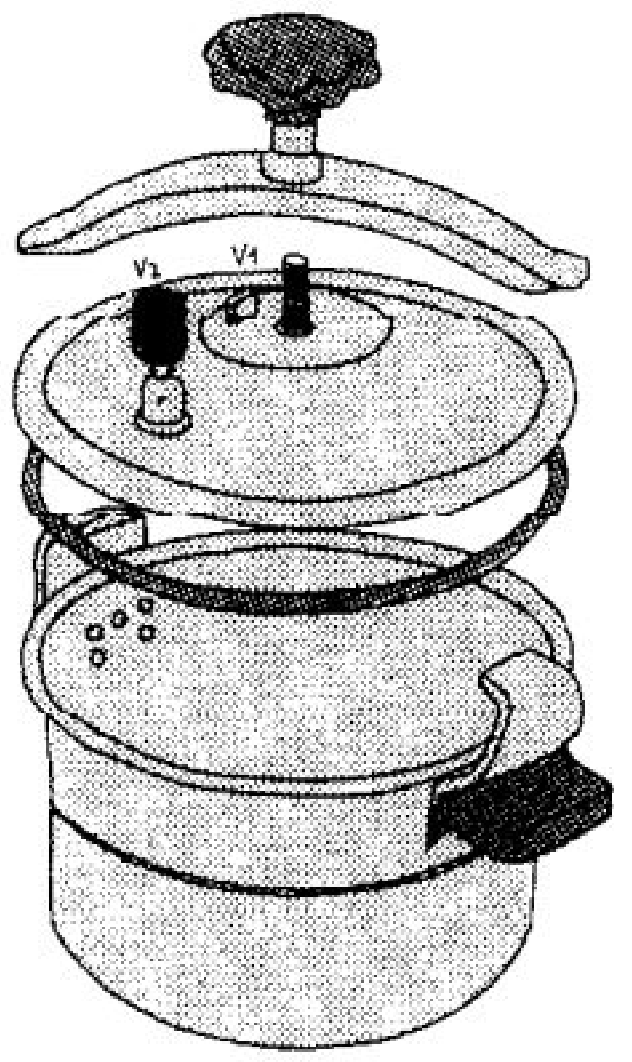
- إياك أن تلمس صنبور النزح أو صمام خروج الهواء أو صمام الأمان في أثناء التسخين تحت الضغط.
- إياك أن تُسَخِّن الموصدة بسرعة كبيرة لبلوغ الضغط المراد حالما يُغْلَق صمام الخروج.
- إياك أن تترك الموصدة دون مراقبة في غضون ارتفاع الضغط.
- إياك أن تفتح الغطاء قبل أن ينخفض الضغط إلى السواء إذ يمكن أن تصاب بحرق بالبخار.
- تَأَكَّدْ خلال التعقيم من إحكام الغطاء وعدم هروب البخار إذ لو حدث ذلك فلن يكون الضغط ولا الحرارة صحيحين.
- إياك أن تترك الموصدة تَبْرُدُ مدة طويلة فإذا تُرِكَت ساعات عديدة دون أن يُفْتَح صمام خروج الهواء فإن الخلاء سيتشكل فيها.

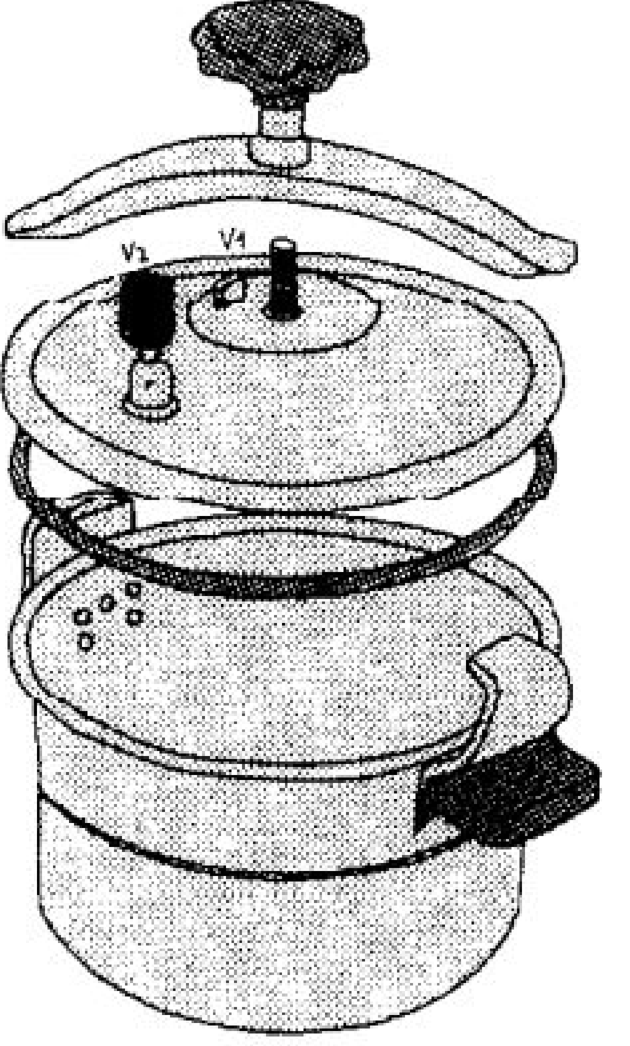
استعمال طنجرة الضغط

إن طناجر الضغط هي قدور كبيرة مصممة لطبخ الطعام بسرعة، باستعمال البخار تحت الضغط؛ ومن الممكن أن تستعمل هي نفسها في بعض المختبرات الصغيرة لتعقيم المعدات المستعملة لجمع النماذج.



الشكل 67.3. تعقيم المعدات باستعمال طنجرة الضغط.





الشكل 68.3. مكونات طنجرة الضغط.

طنجرة الضغط ذات الصِمَام الدَوّار

1. يُملأ قاع الطنجرة بالماء، وتوضع المواد المراد تعقيمها في سلة (تُرْفَع فوق سطح الماء بواسطة مَنْصَب)، وينبغي أن توضع الأشياء الملفوفة قائمةً (ولا يجوز أن توضع أفقية أبداً؛ الشكل 67.3).
2. يُرَكَّب الغطاء على الطنجرة، ثم يُلَوْلَب بمقبضه ثم يُوضَع الصمام الدوار (V1) على محوره الموجود ضمن الغطاء (الشكل 68.3).
3. يُبْدَأ بالتسخين على موقد، فيبدأ الصمام على الفور بالدوران تاركاً المجال لإفلات تيار نفاث من البخار.
4. يُنْتَظَر حتى يصبح تيار البخار مستمراً، ثم يُنْقَص التسخين بحيث يبقى الصمام دواراً ببطء، ثم تترك الطنجرة بتسخين معتدل لمدة 20 دقيقة.
5. يُوقف التسخين ثم تُتْرَك الطنجرة لتَبْرُدَ (أو تُبَرَّد تحت صنبور الماء البارد).
6. يُسْحَب الصمام الدوار بحيث يمكن للهواء أن يدخل، ثم يُرْفَع الغطاء وتُستخرَج المواد المعقمة وتُتْرَك لتَجِفّ.

تحذير: لا يجوز لمس صمام الأمان (V2 في الشكل 68.3) المُثَبَّت بالغطاء.

طنجرة الضغط ذات الصمام المُثَبَّت

1. يُوضَع الماء والمواد المراد تعقيمها في الطنجرة كما سبق ذكره.
2. يُفْتَح الصمام في الغطاء ويُبْدَأ في التسخين.
3. حالما يصدر تيار نفاث مستمر من البخار منفلتاً من الصمام، يُغْلَق هذا الصمام.
4. يُنْتَظَر حتى يبدأ الصمام بالصفير، وعندئذ يُنْقَص التسخين، وتُتْرَك الطنجرة على تسخين معتدل مدة 20 دقيقة.
5. يوقَف التسخين وتُتْرَك الطنجرة لتَبْرُد (أو تُبَرَّد تحت صنبور الماء البارد).
6. يزال الغطاء، تستخرج المواد أو الأشياء قيد التعقيم وتترك الطنجرة لتجف.

تحذير: يجب عدم لمس صمام الأمان أبداً.

التعقيم بالغلي

لا تُستعمَل هذه الطريقة إلا إذا لم يكن لها بديل. تُستعمل مِغْلاةٌ خاصة أو قِدْرٌ تُملأ بالماء (والأفضل بالماء المُزال المعادن) ثم تُسَخَّن فوق الموقد. وينبغي أن تُوضَع الزجاجيات (المحاقن) والماء ما يزال بارداً؛ أما الأدوات المعدنية (الإبر،الملاقط) فينبغي أن تُوضَع والماء يغلي. تُتْرَك الأدوات تغلي مدة 30 دقيقة.

التعقيم بالحرارة الجافة

باستعمال فرن الهواء الساخن

يجب أن تُستعمل هذه الطريقة للأدوات الزجاجية أو المعدنية المتكررة الاستعمال (المحاقن، الإبر، الممصات،الخ...) ،وذلك عندما لا تتوافر موصدة. وينبغي ألا تستعمل للمستنبتات المستعملة في الجرثوميات والتي يجب تعقيمها بالموصدة (انظر ص 86).

1. تُهَيَّأ المواد المراد تعقيمها بنفس الطريقة التي سبق ذكرها بالنسبة للموصدة. وينبغي أن لا تكون السدادات القطنية سميكة جداً وإلا فلن يستطيع الهواء الساخن أن يخترقها. تُرْفَع أغطية العلب المعدنية قليلاً وتُرَتَّب بحيث تواجه ظهر الفرن.
2. يوضع ناظم الحرارة على الدرجة 175° س ويُشعل الفرن، وإذا كان هنالك مروحة فيجب التأكد من أنها تعمل.
3. يُراقَب مقياس الحرارة فعندما تصل الحرارة إلى 175° س يستمر التسخين عند هذه الحرارة مدة 60 دقيقة أخرى. وإذا كانت المواد المراد تعقيمها ثقيلة أو جسيمة الكتلة أو كانت تحتوي على مساحيق، أو زيوت، أو وذلين (هلام النفط)، فتُسَخَّن لمدة ساعتين بالدرجة 175° س.

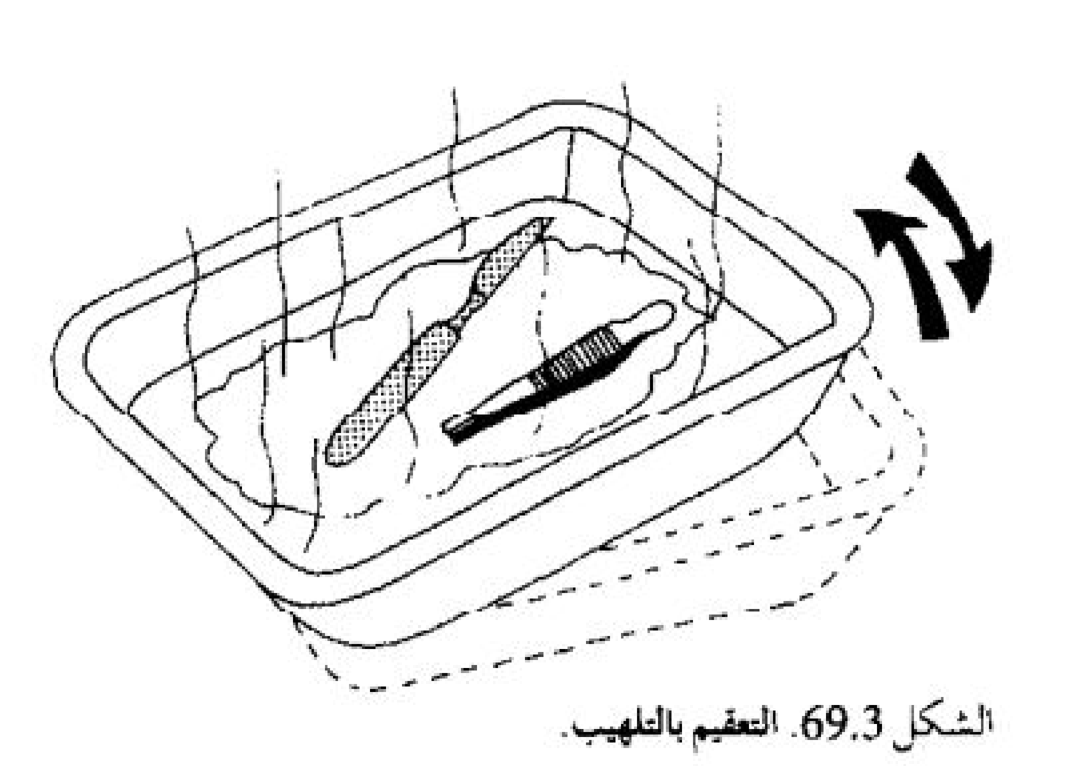
4. يوقف التسخين، ويُنتظَر حتى تهبط الحرارة إلى الدرجة 40 س، ثم يُفتح باب الفرن وتُغلَق أغطية العلب المعدنية وتُستخرج المواد المعقمة.

التعقيم بالتلهيب

هذه الطريقة لا يجوز استعمالها إلا للأشياء المعدنية كالمَلاقِط والمَشارِط، وهي غير ملائمة على الإطلاق للاستعمالات الأخرى.

1. تُوضَع الأدوات المراد تعقيمها في صينية معدنية.
2. تُضَاف حوالى 10 قطرات من الكحول (الإيثانول) وتُشْعَل.
3. تُمَيَّل الصينية إلى أحد الجوانب ثم إلى آخر (الشكل 69.3).

لتعقيم الغانات (جمع غانة أي عروة) الجرثومية ينبغي أن تُسخَّن في لهب مِلْهَب غازي أو مصباح كحولي إلى أن تصل إلى درجة الاحمرار.



الشكل 69.3. التعقيم بالتلهيب.

6.3 التخلص من فضلات المختبر

1.6.3 التخلص من النماذج والمواد الملوثة

يجب أن تُختَبَر أي مادة سريرية مجلوبة إلى المختبر مُعْدِيةً وكذلك أي جهاز مستعمل لمعاملة هذه المادة؛ ولتجنب الحوادث في المختبر يجب التأكد من إعطاء الأولوية لمعاملة النماذج والمواد الملوثة وللتخلص منها بشكل صحيح (انظر الفقرة 8.3).

2.6.3 تَرْميد incineration المواد النبوذة (وحيدة الاستعمال)

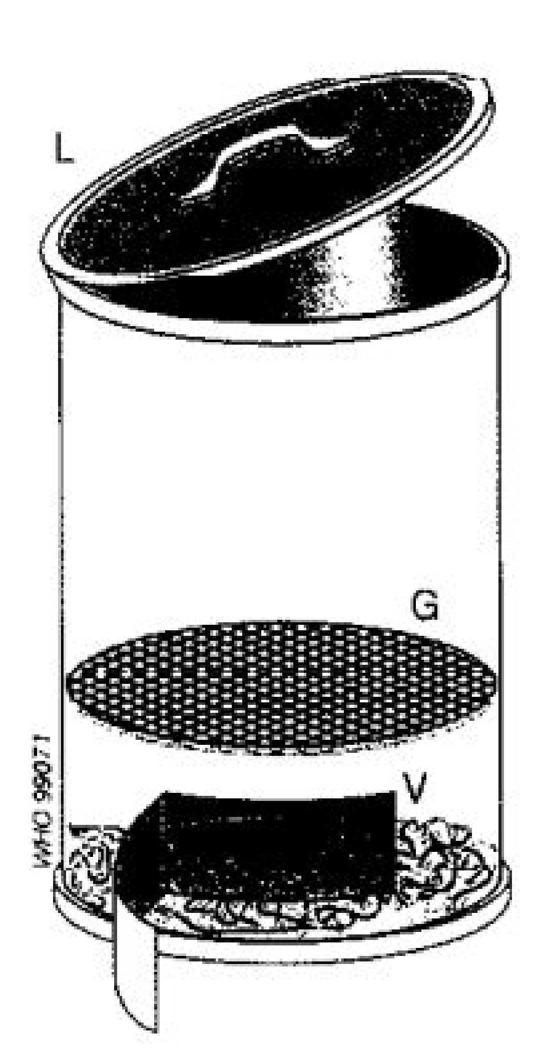
عمل المِرْمَدَة incinerator (الشكل 70.3)

يُستعمَل برميل معدني قديم.

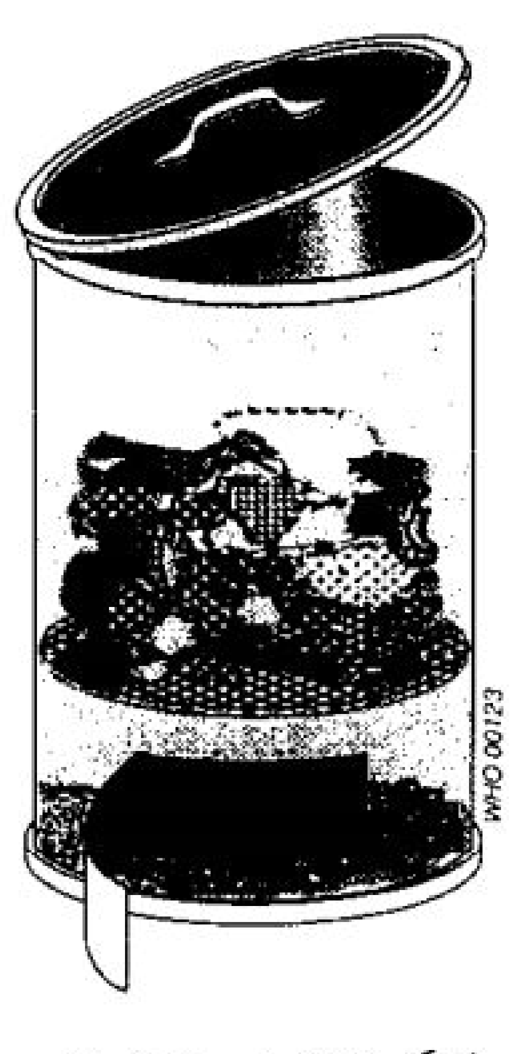
1. يُثَبَّت حاجز مُشَبَّك معدني قوي (G) تثبيتاً متيناً في حوالي ثلث المسافة من أسفل البرميل.
2. تُفْتَح فتحة واسعة (فُولط) في أسفل مستوى الحاجز المشبك.
3. يُؤَمَّن غطاء (L) قابل للرفع للبرميل.

استعمال المرمدة

- في نهاية العمل الصباحي والعمل بعد الظهر توضع كل علب البراز والبلغم أو القشع المستعملة فوق الحاجز المشبك الموجود في المرمدة (الشكل 71.3).



الشكل 70.3. مكونات المِرْمَدة: G: حاجز مشبك؛ L: غطاء؛ فولط: فتحة.



الشكل 71.3. استعمال المرمدة.

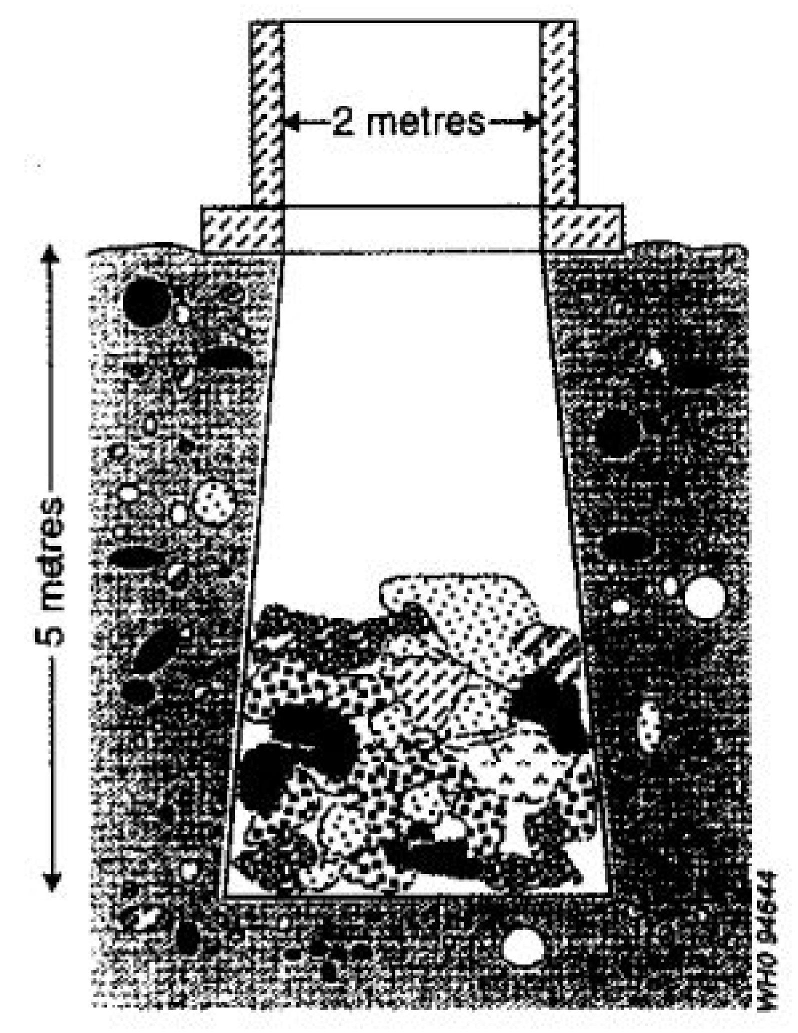
- يُحافَظ دائماً على البرميل المعدني مغلقاً إغلاقاً مُحكَماً (الغطاء والفتحة السفلى معاً) باستثناء فترة الترميد.
- يتم الترميد مرة كل أسبوع أو أكثر من ذلك إذا لزم الأمر. يُملأ قاع البرميل بالأوراق والعيدان الخشبية ونشارَة الخشب، الخ...
- يُرْفَع الغطاء وتوقد النار وتُتْرَك مُوْقَدَةً حتى تتحول كل المواد المُعْدِيَة إلى رماد.
- الرماد الناتج غير خطر ويمكن أن يرمى في الحاوية .

3.6.3 دفن المواد الوحيدة الاستعمال

تُحْفَر حفرة بعمق 4–5 أمتار وسَعَة 1–2 متر في موضع حيث لا يمكن أن تدخل المياه الجوفية ولا المياه السطحية وحيث لا يمكن أن يحصل تسرب لسوائل الفضلات إلى المياه الجوفية (الشكل 72.3). ويجب ألا يتم حفر الحفرة بالقرب من مصدر للمياه.

يُصْنَع غطاء يلائم فتحة هذه الحفرة ملاءمة جيدة، ويُنْصَح بتقوية الحافة العلوية للحفرة بتبطينها ببعض الحجارة أو قطع الآجرّ.

- يجب حماية الحفرة من الحيوانات والطيور والبشر.
- تُرْمَى علب البراز و البلغم أو القشع وغيرها من المواد المعدية ضمن الحفرة مرتين يومياً، ثم تُعاد تغطية الحفرة على الفور.
- تُغَطَّى القاذورات مرة كل أسبوع بطبقة (ثخنها 10سم تقريباً) من الأوراق الجافة.
- يمكن بدلاً من استعمال الأوراق الجافة إضافة طبقة من الكلس الحي (أكسيد الكالسيوم) مرة كل أسبوع.



الشكل 72.3. التخلص من المواد بالدفن.

7.3 إرسال النماذج إلى المختبر المرجعي

يرسل المختبر المحيطي نماذجَ إلى المختبرات المرجعية أو المختبرات الأكثر تخصصاً من أجل الفحوص التي لا يمكن إجراؤها محلياً، مثل: الفحوص المصلية لتحري عدوى اللولبيات أو الحمى التيفية، وزروع البراز لكشف ضمة الكوليرا، والفحوص النسيجية للخزعات.

يُبَيِّن الجدول 2.3 بالنسبة إلى كل نمط من أنماط النماذج وإلى كل فحص من الفحوص:

- أيّ إناء وأي مادة حافظة (إن لزم الأمر) ينبغي استعمالهما؛
- ما هو مقدار النموذج الذي ينبغي إرساله؛
- كم من الزمن يمكن حفظ النموذج.

1.7.3 تعليب النماذج لإرسالها

ينبغي دائماً مراعاة التعليمات النافذة لكل بلد.

ينبغي مضاعفة تعليب النماذج. يوضع النموذج في قارورة أو أنبوب ويُخْتَم ختماً كتيماً (بتثبيت السدادة بشريط لاصق؛ انظر الشكل 73.3).

يتم التحقق من أن القارورة مُعَنْوَنَة باسم المريض وتاريخ أخذ النموذج ، ثم توضع القارورة المختومة في أنبوب من الألمنيوم ذي غطاء مُلَوْلَب وتُحْشَر في الأنبوب بواسطة القطن الماص.

تُلَفّ استمارة طلب الفحوص حول الأنبوب المعدني (الشكل 74.3).

وينبغي أن يظهر في هذه الاستمارة:

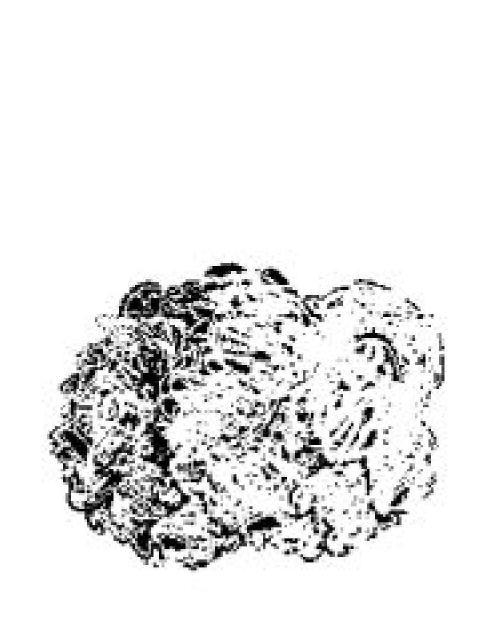
- اسم المريض كاملاً أو (مكتوباً بحروف استهلالية) وتاريخ الولادة ؛
- طبيعة النموذج؛
- تاريخ أخذ النموذج؛

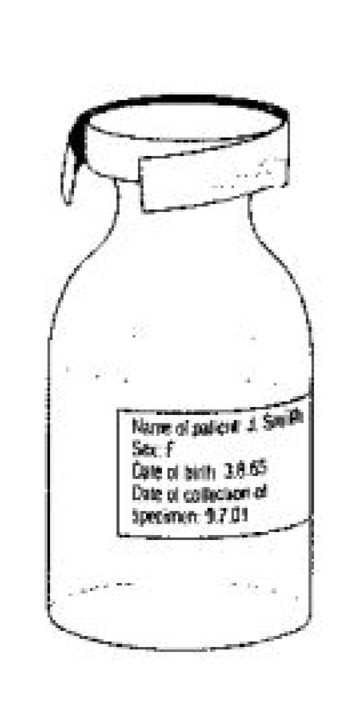
الجدول 2.3 إرسال النماذج إلى المختبر المرجعي.

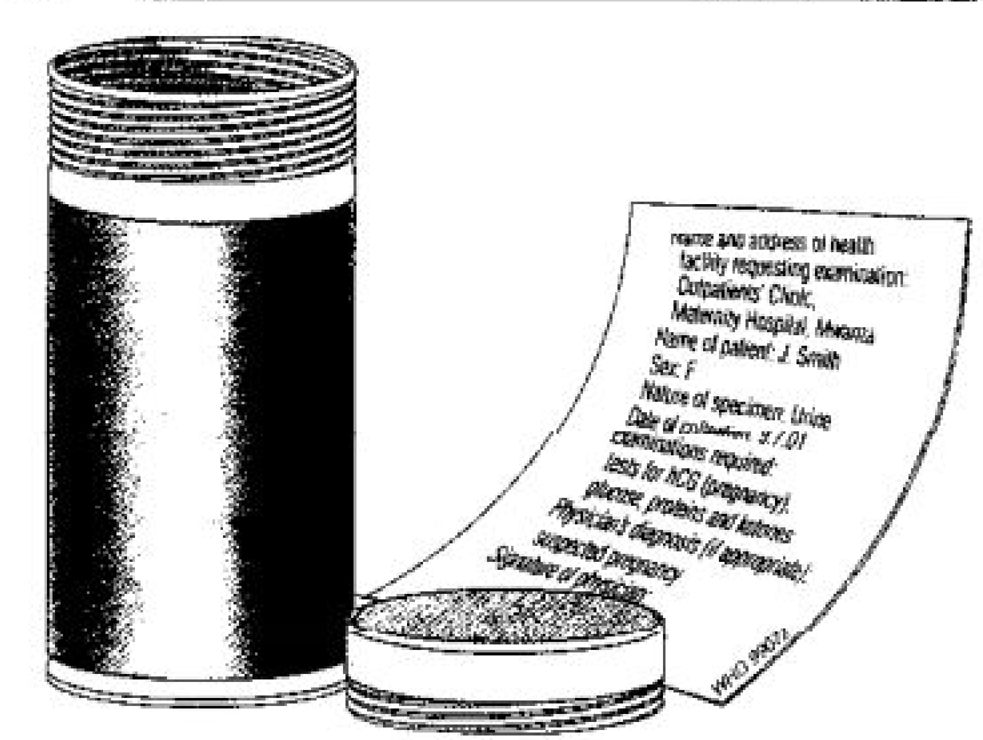
نمط النموذج	نمط الفحص المختبري	الإناء والمادة الحافظة	مقدار النموذج	زمن الانحفاظ
القشع	زرع عصيات السل (الفقرة 4.5)	قارورة سعتها 45 مل تحتوي على 25 مل من محلول بروميد سيتيل بيريدينيوم 0.6%	–	10 أيام
	زرع الأحياء الأخرى	من دون مادة حافظة	–	2 ساعتان
مَسحات الحلق	زرع عُصيات الخُناق (الفقرة 4.5)	أنبوب يحتوي على المصل المخثر	–	24 ساعة
		ماسحة قطنية	–	4 ساعات
السائل الدماغي الشوكي (الفقرة 8)	زرع المكورات السحائية	قارورة خاصة تحتوي على مستنبت ستيوارت المعدل (الكاشف 56) (الفقرة 2.4.8).	–	24–48 ساعة
		قارورة معقمة محكمة ترسل في حوجلة خَلائية مملوءة بالماء بدرجة 37 س	2 مل	12 ساعة
	زرع الأحياء الأخرى	قارورة معقمة	2 مل	2 ساعتان
	الاختبارات الكيميائية (سكر، البروتين، الكلوريد، الخ...؛ الفقرتان 4.3.8 و 5.3.8)	قارورة معقمة	2–4 مل	2 ساعتان
قيح الإحليل	زرع المكورات البنية (الفقرة 5.5)	قارورة خاصة تحتوي على مستنبت ستيوارت المعدل	ماسحة من القيح	24 ساعة
قيح من مصادر أخرى	الزرع الجرثومي (الفقرة 5)	أنبوب معقم	1 مل	2 ساعتان
الدم (الفقرة 9–11)	تعدادات الكريات الحمر والبيض (الفقرة 5.9 و 6.9)	محلول ملح الإيديتات الثنائي البوتاسيوم 100 غ/ل (10%) (الكاشف رقم 22)	5 مل	12 ساعة
	الاختبارات المصلية لتحري الزهري (السفلس) (الفقرة 10.11)	أنبوب معقم بدون مضاد تخثر؛ يرسل المصل أو قطرات مجففة من الدم أيهما أنسب	10 مل	3 أيام
	الاختبارات المصلية لتحري HIV وفيروس التهاب الكبد البائي (الفقرتان 7.11 و 8.11)	ترسل نماذج متتالية من المصل: • مأخوذ في بدء المرض. • مأخوذ بعد 2–4 أسابيع (لكشف تزايد الأضداد)	5 مل	24 ساعة
	اختبارات الغلوكوز (الفقرة 1.10)	5 مغ من فلوريد الصوديوم	5 مل	2 ساعتان
	الاختبارات الكيميائية الأخرى: • البيليروبين • الكوليستيرول • حديد المصل • شحوم المصل • البروتينات • وظائف الكبد • يوريا الدم	قارورة بدون مضاد تخثر (يرسل المصل)	10 مل	48 ساعة
	تقدير الإنزيمات: الأميلاز و الفوسفاتاز و ناقلات الأمين	قارورة من دون مضاد تخثر	5 مل	2 ساعتان
	زرع الدم	حوجلة خاصة معقمة تحتوي على 50 مل من المرق الزرعي توضع بدرجة 37 س بأسرع ما يمكن بعد إضافة النموذج	5 مل	24 ساعة

تتمة الجدول 2.3

نمط النموذج	نمط الفحص المختبري	الإناء والمادة الحافظة	مقدار النموذج	زمن الانحفاظ
البراز	زرع كل المكروبات بما فيها ضمة الكوليرا (الفقرة 9.5)	مستنبت كاري–بلير للنقل (الكاشف 17)	–	4 أسابيع
	زرع كل المكروبات باستثناء ضمة الكوليرا	المحلول الملحي الغليسيرولي المدروء (الكاشف رقم 14)	–	2 أسبوعان
	تحري بيوض الطفيليات ويرقاتها وكيساتها (الفقرة 4.2.4)	قارورة سعتها 30 مل تحتوي على 15 مل من الفورمالدهيد محلول 10% (الكاشف 28)	حوالي 5 مل	تنحفظ على الدوام
	تحري الأشكال الإنباتية للأميبات (المتحولات) (الفقرة 4.2.4)	أنبوب سعته 10مل يحتوي على محلول الثيومرسال واليود والفورمالدهيد TIF (الكاشف 58) أو PVA (الكاشف 44)	–	تنحفظ على الدوام
البول (الفقرة 7)	الاختبارات الكيميائية الحيوية (للغلوكوز، البروتين، الأسيتون، الخ..؛ االفقرة 4.2.7 – 6.2.7)	قارورة نظيفة جافة (مختومة)	20–50 مل (تبعاً لعدد الاختبارات المراد إجراؤها)	2 ساعتان
	الراسب البولي	قارورة نظيفة جافة	30 مل	2 ساعتان
		قارورة تحتوي على 8 قطرات من محلول الفورمالدهيد 10% (الكاشف 28)	30 مل	يومان
	بيوض البلهارسيات (الفقرة 8.2.7)	للتركيز: 2 مل من القاصر التجاري و 1 مل من حمض كلور الماء.	100 مل	تنحفظ على الدوام
	الزرع الجرثومي (الفقرة 5)	قارورة معقمة	20 مل	1 ساعة واحدة
	اختبار الحمل (الفقرة 5.11)	قارورة معقمة	20 مل (أول بيلة في اليوم)	12–24 ساعة (أو 4 أيام في الثلاجة)
خزعة نسيجية (من عضو)	فحص نسيجي (الفقرة 2.7.3)	يستعمل المثبتان التاليان: ● الفورمالدهيد الملحي (الكاشف رقم 27) ● مثبت زنكر (الكاشف رقم 66)	–	–
الأشعار، الأظفار، الجلد	تحري الفطريات (الفقرتان 1.6 و 3.6)	ظرف ورقي أو قارورة ذات غطاء ملولب (لا تستعمل الأنابيب ذات السدادات المطاطية أو المسدودة بالقطن)	–	أسبوع على الأقل (وأحياناً أكثر)







الشكل 73.3. تعليب النماذج لنقلها.

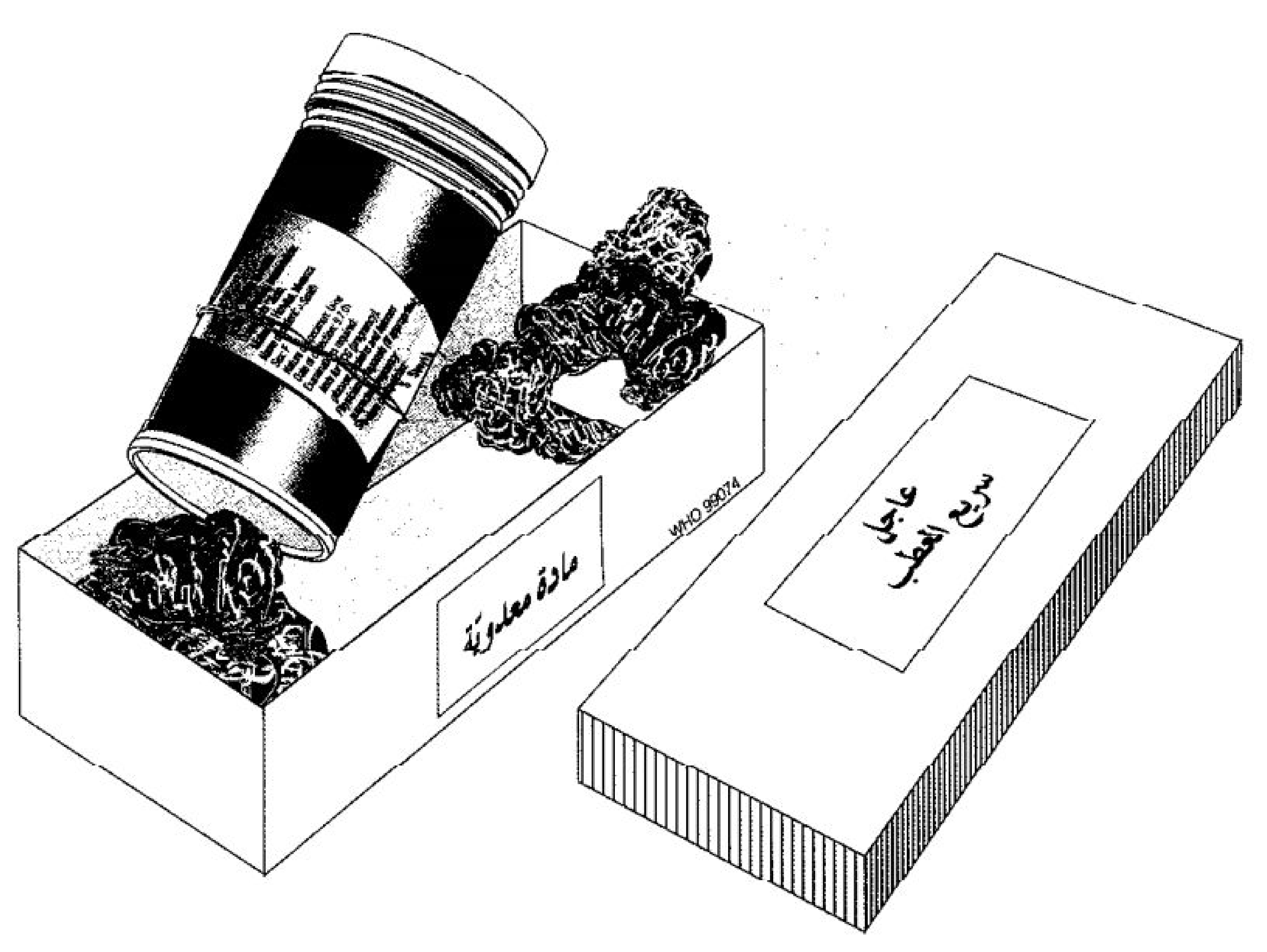
– عنوان المرفق الصحي الذي تم فيه أخذ النموذج؛
– الفحوص المطلوبة (مع تشخيص الطبيب إذا أمكن) ؛

توقع الاستمارة من قبل الطبيب.

يوضع الأنبوب المعدني في علبة متينة من الورق المقوّى أو علبة خشبية من أجل إرساله (الشكل 75.3)، ويُحشَر الأنبوب فيها بإحكام بواسطة القطن غير الماص، ثم يكتب على اللُصاقه على ظاهر العلبه: مُسْتَعْجِل، سريع العطب وإذا لزم: مادة مُعْدِيَة.



الشكل 74.3. إرسال استمارة طلب الفحوص ملفوفة حول الأنبوب المعدني الحاوي على النموذج.



الشكل 75.3. وضع لصاقة معَنْوَنَة على العلبة المحتوية على النموذج.

2.7.3 تثبيت وإرسال الخزعات للفحص الهستوباثولوجي(التشريح المرضي)

الخزعات

في سبيل تشخيص أمراض بعض الأعضاء، يَنْتَزِع بعض الأطباء قطعةً من النسيج بملْقَط أو مِشْرَط خاص؛ وتدعى هذه القطعة من النسيج الخزعة، تفحص هذه الخذعة بالمجهر بعد إجراء مقاطع رقيقة عليها، وبعد معاملتها بملون خاص.

الهيستو باثو لو جيا (التشريح المرضي)

يمكن دراسة خلايا خزعات الأنسجة والأعضاء بالمجهر، ويُدعى هذا النمط من الفحوص باسم الهيستوباثولوجيا (التشريح المرضي)، ويمكن أن يكون مهماً جداً وخاصة لتشخيص السرطان.

إن التقنيّ المختبري يجب أن يكون قادراً على تثبيت الخزعة وضمان أنها سترسل بشكل مناسب وستصل إلى مُختبر الباثولوجيا في حالة جيدة من الحفظ.

تثبيت الخزعات

تُغْمَرُ قطعةُ النسيج في سائل مُثَبِّت، وهذا الإجراء يحفظ النسيج في حالةٍ أقرب ما يمكن إلى الحالة الحية، وذلك بوقايته من فعل الجراثيم ومن الانحلال الذاتي ومن الانكماش الخ...

وأفضلُ القوارير المستعملة للخزعات هي القوارير المغطاة بغطاءٍ من البلاستيك، وذات الفوهة الواسعة؛ ويتم الحصول عليها بسعة 60 مل أو 45 مل أو 30 مل أو 15مل.

المُثبتات

أبسط المثبتات تحضيراً هي:

- محلول الفورمالدهيد الملحي (الكاشف رقم 27)؛
- مثبت زِنْكر (الكاشف رقم 66). وقبل الاستعمال مباشرةً، يضاف 5 مل من حمض الأسيتيك الثلجي إلى كل 100 مل من محلول زنكر.

الطريقة

مقدار المثبت

إن حجم المثبت اللازم هو أكثر من حجم نسيج الخزعة بحوالي 50 ضعفاً. ويكون نسيج الخزعة عادة بثخانة 3–5 مم (فإذا كانت أثخن فإن التثبيت يكون صعباً أو متعذراً).

على أن مساحة النموذج يمكن أن تتفاوت، وهذا ما يُعَيِّن مقدار المثبت المستعمل (انظر الجدول 3.3).

الجدول 3.3. حساب مقدار المثبت المستعمل للخزعة.

مساحة النموذج	مقدار المثبت (مل)
0.5 × 0.5 سم	10–6
0.5 × 1 سم	15–10
1 × 1 سم	25–20
2 × 1 سم	40–30
2 × 2 سم	90

التحضير

من الضروري العمل بسرعةٍ فور استلام الخزعات، ولا يجوز تركها إلى ما بعد. وقبل كل شيء يُسْكَب المُثبت في القارورة، ثم تُلتقَط الخزعة على قطعة من الورق القاسي (ولا يجوز استعمال الملقط المسنن الذي قد يخرب النسيج).

ثم يُلْقَى النموذج في السائل في القارورة.

التَوْسيم (العَنْوَنَة)

يُقطع مستطيلٌ صغير (حوالي 3×1سم) من الورق القاسي، ثم يُستعمل قلم الرصاص ليُكْتَب به عليها: اسم المريض وطبيعة النموذج وتاريخ أخذ النموذج .ثم توضع قطعة الورق في القارورة مع المثبت.

زمن التثبيت

يختلف هذا الزمن تبعاً للمثبت المستعمل. ففي المُثَبِّتَيْن الآنفي الذكر يمكن أن يُتْرك النموذج في السائل مدة أسبوع على الأقل قبل أن يُقْطَع ويُلَوَّن. يجب إرسال المواد المثبتة إلى مختبر الباثولوجيا (المرضيات) دون تأخير،علماً أن طول مدة النقل لن يؤدي إلى إتلاف النماذج.

إرسال الخزعات

ينبغي التأكد من أن غطاء أو سدادة القارورة ملصوقةٌ بشريط لاصق. توضع القارورة في أنبوب من الألومينيوم ذي غطاء ملولب (الفقرة 1.7.3)، ثم يوضع الأنبوب والاستمارة في صندوق من الخشب أو الورق المقوى للإرسال الفوري.

8.3 السلامة في المختبر

- يجب أن يكون لدى كل مختبر دليل مكتوب عن الممارسات المأمونة في المختبر التي يجب اتباعها في كل الأوقات.
- يجب أن يكون لدى المختبر صندوق للإسعاف الأولي (الفقرة 2.8.3) وأن يكون عضو واحد على الأقل من فريق العمل مُدَرَّباً على الإسعاف الأولي.
- يجب أن يكون المختبر منطقة للعمل فقط، ويجب الحد من الزوار.
- يجب عدم تناول الطعام أو الشراب في المختبر.
- يجب ارتداء الملابس الواقية ونزعها قبل مغادرة المختبر.
- يجب دوماً أن يُعْتَبَر أي نموذج مختبري مؤذياً من حيث المبدأ وأن يُعامَل باعتناء، تُلْبَس القفازات الواقية.
- يجب وضع كافة النماذج بأمان على منضدة أو في آنية لتجنب انسكاب السوائل أو الكسر.
- يجب بذل عناية فائقة لدى أخذ ومعاملة عينات الدم لأنها يمكن أن تؤوي عوامل مُعْدِيَة (مثل فيروس التهاب الكبد B، طفيليات،الخ...).
- إياك أن تلوث نفسك أو مناطق العمل بأي من التماذج .
- إياك أن تمص الدم أو سوائل الجسم أو الكواشف بالفم.
- يجب تغطية كل الجروح بضماد كتيم (لَزْقَة).
- يجب التخلص بشكل مأمون من الإبر والواخزات المستعملة في إناء خاص للأدوات المدببة (وهو مصنوع من قوارير بلاستيكية ذات غطاء ملولب فيه ثقب) . وحالما يمتلئ هذا الإناء فيجب تعقيمه بالموصدة أو نقعه في مطهر قبل حرقه أو دفنه في حفرة عميقة (الفقرتان 2.6.3 و 3.6.3).
- تغطى كافة المواد المنسكبة أو أنابيب الزرع المكسورة بقطعة قماش مغموسة في مطهر (الفقرة 4.5.3) وتترك لمدة 30 دقيقة .ثم يجري استعمال فرشاة قاسية أو قطعة من الورق المقوى لإزالة هذه المواد ضمن حاوية خاصة بالنماذج وحيدة الاسعمال
- في نهاية اليوم تمسح المناضد بقطعة قماش مغموسة بمادة مطهرة (الفقرة 4.5.3)

- تغسل اليدين جيداً بعد معاملة المادة المُعْدِيَة وقبل مغادرة المختبر.

يمكن التخلص من النماذج:

- في أوان من الورق المقوى أو في أوعية بلاستيكية يمكن إتلافها (البراز، البلغم أو القشع)؛
- في حناجير وقوارير زجاجية يمكن تنظيفها وتعقيمها واستعمالها ثانية (الفقرات 1.5.3 و 2.5.3 و 5.5.3).

يجب ألا يعاد استعمال الأواني النبوذة (الوحيدة الاستعمال).

1.8.3 الاحتياطات المتخذة لتجنب الحوادث

الاشتغال بالحموض والقلويات

تخفيف حمض السلفوريك المُرَكَّز بالماء

ينبغي دائماً أن يضاف حمض السلفوريك (حمض الكبريت) إلى الماء قَطْرَةً فَقَطْرَةً، مع تحريك المزيج بعد إضافة كل قطرة؛ ويجرى ذلك فى المغسلة ما أمكن. ولا يجوز أبداً صب الماء على حمض الكبريت بسبب خطر التطاير الناجم عن التَّبَخُّر الانفجاري للماء حين المزج.

قوارير الحموض والقلويات

تحفظ قوارير الحموض والقلويات في الرفوف السفلى من الخزائن؛ وعندما تُستخرج قارورة يجب التأكد من أن اليد جافة، وتُمْسَك القارورة جيداً بوضع قائم. ولا يجوز حفظ الحموض والقلويات في قوارير ذات أغطية زجاجية مُصَنْفَرَة (لأنها قد تستعصي).

المص

يفضل ما أمكن استعمال الاسطوانات المُدَرَّجة الصغيرة لقياس الحموض والقلويات. أما إذا لزم إجراء قياسات أكثر دقة (مضبوطية) فيستعمل ممص ذو بصلات مطاطية للسلامة؛ ويتم المص ببطء مع مراقبة مستوى السائل.

تسخين الزجاجيات والسوائل

أنابيب الاختبار

لا يجوز أبداً تسخين أنبوب الاختبار من قاعِهِ فالسائل الذي فيه يمكن أن يتناثر ويفرقع، وإنما يُسَخَّن من وسطه مع التحريك بلطف؛ ويجب أن تكون فوهة الأنبوب موجهة بعيداً عن الفاحص أو أي شخص آخر، باتجاه بعيد عن منطقة العمل أو باتجاه المغسلة.

الزجاج المقاوم للحرارة

لا يُسَخَّن على ملهب بنزن إلا الزجاجيات المقاومة للحرارة وأواني الخزف (البورسلين)، أما الزجاج العادي فإنه ينكسر.

السوائل اللَّهوبَة

ينبغي ألا يُحتَفَظ في المختبر إلا بكميات قليلة من السوائل اللهوبة (القابلة للاشتعال) كالأثير والإيثانول والأسيتون والبنزين والطولوين.

تحذير: إن الأثير قد يشتعل ولو كان على بعد عدة أمتار من اللهب، فلا يجوز وضع قارورة الأثير على منضدة عمل يوجد عليها لهب مفتوح.

ملاهب غاز البروبان والبوتان

عند إشعال مِلْهَب على الغاز، يُشْعَلُ الثِّقاب دائماً ويمسك أمام الملهب قبل فتح صنبور الغاز. وينبغي إقفال الصمامات الرئيسية لكل قوارير غاز البوتان كل مساء. كما ينبغي تبديل المواسير المطاطية التي تصل الملهب بقارورة الغاز مرة كل سنة.

2.8.3 الإسعاف الأولي في حوادث المختبر

الحوادث في المختبر

يمكن أن تنجم الحوادث في المختبر الطبي عن أسباب مختلفة:

- الحموض أو القلويات: تتطاير على الجلد أو في العينين، أو تُبتَلَع.
- المواد السامة.
- الحرارة: اللهب المفتوح، السوائل الحارة، السوائل اللهوبة، الانفجارات.
- الإصابات بالمواد المُعْدِيَة، والصدمات الكهربائية، الخ...

معدات الإسعاف الأولي

- صندوق الإسعاف الأولي (انظر : أدناه).
- كربونات الصوديوم، محلول مائي 50 غ/ل (5%) (الكاشف رقم 52).
- بيكربونات الصوديوم، محلول مائي 20 غ/ل (2%) (الكاشف رقم 50) (في قارورة قطرات عينية).
- محلول مشبع من حمض البوريك (الكاشف 12) (في قارورة قطرات عينية)
- محلول حمض الأسيتيك 5% (الكاشف 1).
- قطن وشاش .
- مِزْكروكروم وصَبْغَة اليود.

هذه البنود يجب أن تكون متوافرة دوماً في المختبر بحيث يسهل الوصول إليها ولا يجوز أن تُحْفَظ في خزانة مقفلة بمفتاح.

صندوق الإسعاف الأولي

يجب أن يحتوي صندوق الإسعاف الأولي على ما يلي :

- لائحة تعليمات تعطي إرشادات عامة.
- ضمادات معقمة لاصقة ملفوفة كلٌ على حدة بقياسات مختلفة.
- رَفائِد معقمة للعين مع عَصائِب للربط.
- عصائب مثلثية.
- ضمادات معقمة للجروح الخطيرة.
- ضمادات معقمة غير مُشَرَّبَة بدواء للجروح الصغرى.
- دبابيس مأمونة.
- قطعة فموية للإنعاش فَماً لِفَم في حالات العدوى المشتبه بها.
- قارورة تحتوي على قطرات عينية.
- دليل للإسعاف الأولي.

إن محتويات صندوق الإسعاف الأولي يجب أن يعاد تنسيقها فوراً بعد الاستعمال ويجب أن يتم بشكل دوري التأكد من كون الصندوق بحالة جيدة .

الإصابات الأكّالة (الكاوية) corrosive الناتجة عن الحموض

يمكن أن تنجم إصابات كاوية عن الحموض مثل: حمض النتريك (الآزوت)، حمض السلفوريك، حمض الكروميك، حمض الهيدروكلوريك (كلور الماء)، حمض الأسيتيك (الخل)، حمض ثلاثي كلور أسيتيك. ولذلك من الضروري القيام بعمل فوري في حالة حدوث حادث بها.

في جميع الحالات: تُغْسَل المنطقة المصابة فوراً بكميات كبيرة من الماء.

تطايرات الحمض على الجلد

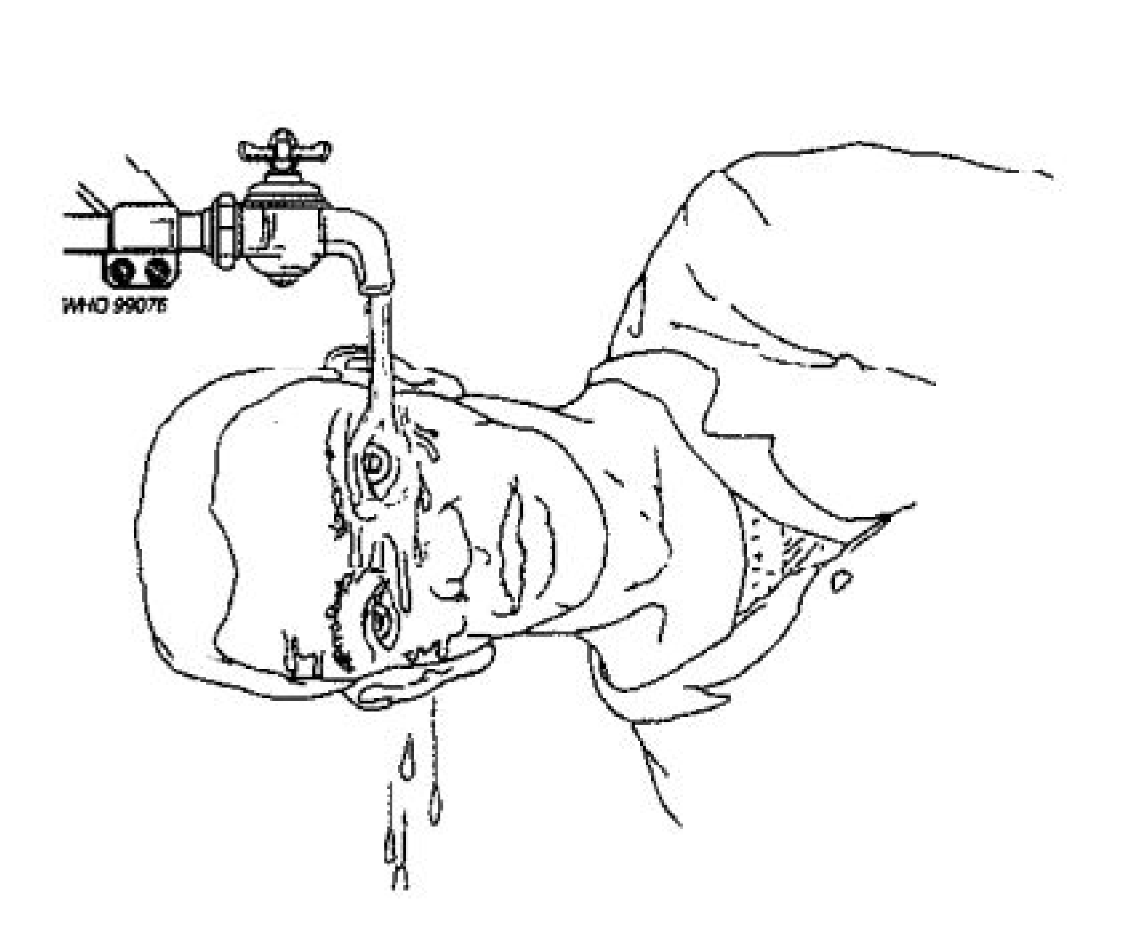
- تغسل المنطقة المصابة جيداً ومراراً بكميات كبيرة من الماء.
- يُغْمَر الجلد المصاب بالقطن المغموس في محلول كربونات الصوديوم 5%

تطايرات الحمض في العين

- تغسل العين فوراً بكميات كبيرة من الماء الذي يُرَذّ من قارورة غاسلة (أو بصلة مطاطية) لمدة 15 دقيقة (الشكل 76.3)، ويُرَذُّ الماء في مُؤْق العين أي زاويتها القريبة من الأنف. ويمكن بدلاً من ذلك أن تُغسل العين بالماء الجاري من حنفية (الشكل 77.3). يطلب من المريض أن يغلق العين غير المصابة.
- بعد الغسل تُقطر أربع قطرات من محلول مائي لبيكربونات الصوديوم 2% في العين.
- يُسْتَدْعى الطبيب، ويثابر على تقطير محلول البيكربونات في العين حتى وصول الطبيب.



الشكل 76.3. شطف العين باستعمال قارورة غاسلة من البولي إيثيلين.



الشكل 77.3. شطف العين تحت الحنفية.

ابتلاع الحموض

إذا أُبْتُلِعَ الحمضُ بشكل عارض:

- يُسْتَدْعى الطبيب.
- يُسْقَى المريض بعضاً من الحليب فوراً (أو بدلاً من ذلك يعطى بَياضَ بيضتَيْن مخلوطاً بـ500 مل من الماء) وإذا لم يوجد أي من هذين فينبغي على المريض أن يشرب كثيراً من الماء العادي.
- يَتَمَضْمَض المريض ويَتَغَرْغَر بالحليب
- يسقى ثلاثة أو أربعة أكواب من الماء العادي.
- إذا كانت الشفتان واللسان محترقةً بالحمض:
  - تُشْطَف جيداً بالماء، ثم
  - تُغْمَر بمحلول مائي لبيكربونات الصوديوم 2%.

ملاحظة :يجب مص الحموض دائماً باستعمال بصلة أمان مطاطية ولا تمص أبداً بالفم .

الإصابات الأكّالة (الكاوية) الناتجة عن القلويات

يمكن أن تنجم إصابات كاوية أيضاً عن القلويات مثل: هيدروكسيد الصوديوم، هيدروكسيد البوتاسيوم، وهيدروكسيد الأمونيوم. إن حروق القلويات شديدة وخطيرة كحروق الحموض وقد تكون أخطر منها.

في كل الحالات: تغسل المنطقة المصابة فوراً بمقادير كبيرة من الماء.

تطايرات القلويات على الجلد

- تغسل المنطقة المصابة جيداً وتكراراً بالماء.
- يغمر الجلد المصاب بالقطن المغموس في محلول حمض الأسيتيك 5% (أو الأسيتيك العادي غير المُخَفَّف أو عصير الليمون).

تطايرات القلويات في العين

- يُغسَل فوراً بمقادير كبيرة من الماء تُرَذّ من قارورة غاسلة (أو بصلة مطاطية)، ويرذ الماء في مأق العين الأنسي أي زاويتها المجاورة للأنف (الشكل 76.3) أو بدلاً من ذلك تُغسل العين بالماء الجاري من الحنفية (الشكل: 77.3).
- بعد الغسل بالماء تُغْسَل العين بمحلول مشبع من حمض البوريك.
- يُسْتَدعى الطبيب، ويُثابر على غسل العين بمحلول حمض البوريك حتى وصول الطبيب.

ابتلاع القلويات

إذا ابتلع القلوي بشكل عارض:

- يُستدعى الطبيب.
- يُسْقَى المريض على الفور محلول حمض الأسيتيك 5% (أو عصير الليمون أو الخل المخفف: جزء واحد من الخل إلى ثلاثة أجزاء من الماء).
- يتمضمض المريض ويتغرغر ببعض المحلول الحمضي نفسه.
- يُسْقَى ثلاثة أو أربعة أكواب من الماء العادي.
- إذا كانت الشفتان واللسان محترقة بالقلوي:
  - تشطف جيداً بالماء، ثم
  - تُغْمَر بمحلول حمض الأسيتيك 5%.

التسمم

يمكن أن ينجم ذلك عن:

- استنشاق أبخرة أو غازات سامة (الكلوروفورم مثلاً).
- الابتلاع العارض لمحلول سام.

في جميع الحالات:

- يستدعى الطبيب أو الممرضة المُؤَهَّلَة، مع ذكر المادة السامة التي حصل التسمم بها.
- يوضع المصاب في الهواء الطلق في انتظار وصول الطبيب.

الحروق الناجمة عن الحرارة

ويمكن أن تكون من إحدى زمرتين:

- الحروق الشديدة أو الواسعة (مثلاً الحروق الحادثة عندما ينسكب الأثير المشتعل أو الماء الغالي على المصاب).
- الحروق الصغيرة (مثلاً الحروق الناجمة عن الزجاجيات الساخنة أو لهب ملهب بنزن).

الحروق الشديدة

- إذا كان المصاب يحترق (مثلاً قد تطاير عليه الأثير المشتعل أو غيره من المذيبات اللهوبة)، يُلَفّ على الفور ببطانية لإطفاء اللهب.
- يُعْلَم الطبيب المناوب في قسم الإصابات فوراً مع إخباره بأن مريضاً مصاباً بحروق شديدة ينبغي نقله إلى القسم.
- يمدد المصاب على الأرض، ولا تنزع عنه أيٌّ من ملابسه، ويعطى إذا كان بارداً.
- لا تُطَبَّق أي معالجة من معالجات الحروق: إذ يجب أن يُترك ذلك للطبيب.

الحروق الصغيرة

- يُغمر القسم المحترق بالماء البارد أو الماء المثلج لتخفيف الألم.
- يوضع المِزكروكروم أو صبغة اليود على الحرق.
- يُوضع ضماد من الشاش دون أن يُشد.
- إذا أصبح الحرق مصاباً بالعدوى أو لم يلتئم يحول المريض إلى الطبيب.

تنبيه: لا يجوز أبداً تمزيق أو فقء النُفطات blisters التي تتشكل فوق الحروق.

الإصابات التي يسببها الزجاج المكسور

الزجاج النظيف

- يُطَهَّر الجلد بالطريقة المعتادة (باستعمال المِزكروكروم أو صبغة اليود الخ...).
- يغطى بضماد لاصق (من النوع الجاهز للاستعمال).
- إذا كان الشق ينزف بغزارة يوقف النزف بالضغط عليه برفادَة (ضماد ضاغط) ويحول المريض إلى قسم الإصابات.
- إذا كان الجرح ينزف بشدة والدم يتدفق دُفْعَةً دُفْعَةً، يُحاوَل إيقاف النزف برفادة (ضماد ضاغط) ويستدعى طبيب أو ممرضة مؤهلة.
- يثابر على ضغط الجرح في انتظار وصول الطبيب أو الممرضة (اللذين سيقرران ضرورة تطبيق عاصِبَة أم لا).

الزجاج المحتوي على مواد مُعْدِيَة

كالزجاجيات المحتوية على البراز أو القيح أو المزارع الجرثومية، الخ...:

- يتم التحقق من كون الجرح نازفاً، فإذا لم يكن كذلك يُعْصَر بقوة لجعله ينزف عدة دقائق.
- تُبَلَّل المنطقة بأكملها (حوافي الجرح وباطن الجرح) بصبغة اليود أو بمطهر جراحي (الجدول 1.3، ص84).
- يُغسل جيداً بالماء والصابون.
- يُبَلَّل ثانيةً بصبغة اليود.
- يحول المصاب إلى الطبيب إذا كانت المواد المُلَوَّثَة مُعْدِيَةً بالتأكيد (كالمزارع الجرثومية، القيح، الخ...).

الصدمات الكهربائية

العادة أن يستعمل في المختبر تيار كهربائي متناوب (120 أو V220)، ويمكن أن تحدث صدمات كهربائية عندما يتم التعامل مع جهاز خَرِب وخصوصاً بأيدٍ مُبَلَّلة وتتجلى أعراض الصدمة بالإغماء والاختناق.

- قبل عمل كل شيء يقطع التيار الكهربائي من الفاصمة الرئيسية.
- يستدعى الطبيب.
- في حال توقف القلب ، يجرى تمسيد خارجي للقلب في حال الضرورة، ويبدأ بإجراء التنفس الاصطناعي.

9.3 ضمان الجودة في المختبر

يشمل ضمانُ الجودة كلَّ جوانب العمل من تعيين هوية المريض وتحضيره بشكل صحيح إلى ضمان وصول نتيجة المختبر إلى الطبيب.

والموضوع الرئيسي لضمان الجودة هو ضمان أن المختبر يؤمن نتائج صحيحة ومتعلقة بالحالة السريرية للمريض

وتتضمن المراحل التي يطبق عليها ضمان الجودة:
- تحضير المريض.
- أخذ النموذج.
- معاملة النموذج وإرساله. (راجع الفقرتين 1.6.2 و 7.3)
- مراقبة الطرق والكواشف
- معايرة المعدات (الفقرة 5.2)
- تسجيل النتائج (الفقرة 2.6.2)

1.9.3 أخذ النموذج

إن أخذ النموذج بالطريقة الصحيحة على قدر من الأهمية لضمان الحصول على النموذج الأكثر مطابقة للحالة السريرية للمريض. وعندما تؤخذ النماذج بهدف التحكم في علاج المرضى يجب أخذ النقاط التالية بعين الاعتبار:
- الحالة الفيزيولوجية للمريض (مثلاً: تختلف المجالات المرجعية لبعض المشعرات تبعاً للعمر والجنس)؛
- التحضير الملائم للمرضى لأخذ النموذج (مثلاً: يجب أن يؤخذ الدم لقياس الغلوكوز والشحوم في الصباح من المريض بعد أن صامَ لمدة 12 ساعة، لأن تراكيزها تكون مرتفعة بعد تناول الوجبات).
- الأدوات الملائمة لأخذ النماذج (مثلاً: يجب أن يؤخذ الدم لإجراء تعداد الكريات في أنابيب محتوية على ملح الإيديتات الثنائي البوتاسيوم لتجنب تخثر البلازما وتكدس الصفيحات)؛
- الإجراءات الملائمة لأخذ النماذج (مثلاً: يختلف تركيز الغلوكوز بين الدم الشرياني والوريدي).

إن الجوانب النوعية لأخذ النماذج بما فيها تلك الخاصة بكشف المكروبات المُعْدِيَة (الجراثيم والطفيليات) مُدْرَجَةٌ في الفقرات المتعلقة بها في هذا الكتاب .

للتأكد من أن النموذج الأكثر فائدة قد تم الحصول عليه فيجب أخذه في الوقت الملائم. إن الأخذ العشوائي للنماذج يجب أن يقتصر على الحالات الطارئة. فعلى سبيل المثال يجب جمع نماذج البلغم أو القشع لتحري عصية السل في الصباح الباكر بينما يجب جمع عينة البول لتشخيص البلهارسيا والآفات الأخرى من البول الانتهائي (الفقرة 8.2.7).

القسم الثاني



4 . الطفيليات

1.4 مقدمة

الطفيلي هو كائن حي يعيش في كائن حي من نوع آخر أو يعيش عليه؛ ويطلق على الكائن الحي الذي يستمد منه الطفيلي غذائه اسم الثَوِيّ (المُضِيْف). ويطلق على الطفيلي الذي يعيش على ثَوِيّه (كالقراد) اسم الطفيلي الخارجي، كما يطلق على الطفيلي الذي يعيش في ثويه كالدودة الشصية أو الأميبة اسم الطفيلي الداخلي.

تنجم العديد من الأمراض عن العدوى بالطفيليات، كما أن الطفيليات هي سبب سلا حظة هامة للإسهال (انظر: الجدول 1.4) الذي يعتبر مشكلة صحية كبيرة في البلدان النامية.

إذا كان الإسهال الحاد ناجماً عن عدوى طفيلية فيمكن تحديد ذلك بفحص نموذج للبراز.

الجدول 1.4. الأسباب الشائعة للمرض الإسهالي

نمط السبب	السبب النوعي
عدوائي	
الميوانات الأوالي	الأميبات أنواع الجياردية القربية القولونية متماثلة البوائغ البديعة خفية الأبواغ أنواع المتصورة
الجراثيم	أنواع السلمونيلة أنواع الشيغيلة الإشريكية القولونية ضمة الكوليرا أنواع العنقودية أنواع العطيفة
الفيروسات	الفيروس العجلي
الديدان	أنواع المتوارقة الأسطوانية البرازية المسلكة الشعرية الذيل المحرشفة القزمة الخيفانة الخيفاء
غير عدوائي	
متلازمات سوء الامتصاص	الذرب المداري داء كرون داء ويبل وغيره
التسممات	الانسمام الغذائي الكيماويات الأدوية
اضطرابات استقلابية خلقية	عدم تحمل السكريات الاعتلال المعوي الغلوتيني
اضطرابات استقلابية	المرض الكظري

من المفيد لتقنيي المختبر أن يعرفوا جيداً الطرائق التي يمكن أن يصبح بها الناس مصابين بعدوى الطفيليات المعوية (الجدول 2.4)، ومن ثم يمكنهم إعطاء وصايا صحية لأعضاء المجتمع كما يمكنهم تجنب العدوى بنفسهم وخصوصاً في المختبر.

الجدول 2.4. طرق انتقال الطفيليات المعوية

الاسم العلمي للطفيلي	الاسم الشائع	كيفية التقاط العدوى
الديدان		
الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الملقوة العفجية)	الدودة الشصية	المشي بأقدام عارية على أرض ملوثة بالبراز، أو اللعب بالتربة الملوثة (الأطفال)
الصفر الخراطيني (الأسكاريس)	الدودة المدورة	بأكل الخضار النيئة والسلطات غير المغسولة، أو اللعب بالتربة الملوثة بالبراز (الأطفال)
السرمية الدويدية	الدودة الدبوسية، الأقصور	بالمشي حافي القدمين على أرض ملوثة بالبراز، أو العدوى الذاتية، أو التماس مع مصابين بالعدوى ذوي أيد قذرة (الأطفال)، أو عدم الانتباه لقواعد النظافة في المختبر
المسلكة الشعرية الذيل	السَّوْطاء	بأكل الخضار النيئة غير المغسولة
أنواع الأسطونية الشعرية		بأكل السلطات غير المغسولة
البلهارسية الدموية البلهارسية المقحمة البلهارسية اليابانية المنسونية	البلهارسية الشرجية البلهارسيةالمثانية البلهارسية الآسيوية أو الشرقية البلهارسية المعوية	لكافة أنواع البلهارسية: السباحة في الغُدران أو الأنهار أو البرك الملوثة بالقواقع النهرية المصابة بالعدوى
المتورقة العملاقة المتورقة الكبدية المتوارقة البوسكية	المثقوبة الكبدية العملاقة المثقوبة الكبدية المثقوبة المعوية العملاقة	بأكل السلطات غير المغسولة بأكل السلطات غير المغسولة بأكل السلطات غير المغسولة
متفرع الخصية الصيني الخيفانة الخيفاء خلفية المناسل اليوكوغاوية	المثقوبة الكبدية الصينية المثقوبة اليابانية	بأكل اللحم المصاب بالعدوى غير المطبوخ جيداً
متفرعة المعى المتغصنة متفرعة المعى الهوسبية	المثقوبة الواخزة (السنانية) المثقوبة الواخزة	بابتلاع النمل المصاب بالعدوى (في السلطات غير المغسولة أو حين اللعب بالعشب)
جانبية المناسل الوسترمانية	المثقوبة الرئوية الشرقية	بأكل السرطانات النهرية المصابة بالعدوى غير المطبوخة جيداً
الشريطية العزلاء الشريطية الوحيدة	شريطية البقر شريطية الخنزير	بأكل اللحم المصاب بالعدوى غير المطبوخ جيداً
الشكل اليرقي (الكيسة المذنبة)		بأكل الخضار النيئة غير المغسولة، أو العدوى الذاتية
العوساء العريضة	شريطية السمك	بأكل السمك النهري النيئ أو غير المطبوخ جيداً
ذات المنفذين الكلبية	شريطية الكلب	بابتلاع براغيث الكلاب (الأطفال)
المحرشفة القزمة	الشريطية القزمة	بأكل الخضار الملوثة، أو التماس مع أشخاص مصابين بالعدوى
المحرشفة الضئيلة	شريطية الجرذ	بابتلاع براغيث الجرذان
الأوالي		
القربية القولونية		بأكل الخضار غير المغسولة، أو التماس مع الخنازير المصابة بالعدوى (في المزارع)
المتحولة الحالة للنسج والجيارديا اللمبلية		بشرب الماء الملوث أو أكل الخضار النيئة والسلطات غير المغسولة، أو التماس مع مصابين بالعدوى ذوي أيدي قذرة، أو عدم الانتباه لقواعد السلامة المتعلقة بالنظافة في المختبر

2.4 فحص نماذج البراز لتحري الطفيليات

1.2.4 جمع النماذج

يؤخذ 100 غ تقريباً من البراز في إناء نظيف جاف دون مواد حافظة، والأكثر ملاءمة أن يكون الإناء ذا غطاء ملولب (الفقرة 5.5.2). ويجب التأكد من احتواء النموذج على أي ديدان كهلة أو قطع عابرة.

لجمع نماذج البراز للفحص الجرثومي (مثلاً لزرع جراثيم الكوليرا وغيرها من الجراثيم التي تسبب الزحار) انظر الفقرة 4.9.5.

احتياطات

- إياك أن تترك نماذج البراز مُعَرَّضَة للهواء في أوانيها دون أغطية.
- إياك أن تقبل نماذج البراز الممزوجة بالبول (مثلاً في أمبولة أو أصيص).
- إياك أن تفحص نماذج البراز دون ارتداء القفازات أولاً.
- افحص دائماً نماذج البراز خلال 1–4 ساعات بعد أخذها، وإذا وصل عدد من النماذج في نفس الوقت تُفحَص أولاً البرازات السائلة والبرازات المحتوية على المخاط أو الدم لأنها قد تحتوي على أميبات متحركة (تموت بسرعة).

2.2.4 الفحص العِيانيّ

توصف عينات البراز بشكل أفضل بتحديد لونها وقوامها ووجود أو غياب الدم أو النضحة exudate عيانياً.

اللون

يمكن أن يوصف اللون بأنه :

- أسود (الدم الخفي).
- بني، أصفر شاحب (الدهن).
- أبيض (اليرقان الانسدادي).

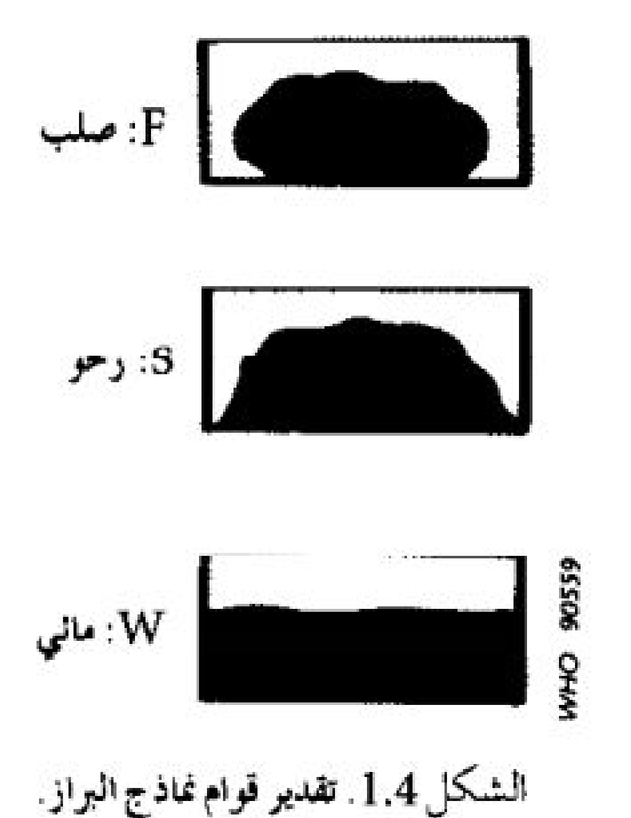
القوام (الشكل 1.4)

يمكن أن يوصف القوام بأنه:

متماسك ذو شكل (الشكل السوي).

- متماسك طري.
- عديم الشكل وسائل (مائي).

يجب ملاحظة وجود الدم أو المخاط الظاهرين اللذين يبدوان بشكل خيوط حمراء أو بيضاء، علماً أنه يمكن أن يوجد الدم في بعض الحالات الطبية (مثل التهاب القولون التقرحي، داء البلهارسيات).



الشكل 1.4. تقدير قوام نماذج البراز.

3.2.4 الفحص المجهري

إن الفحص المجهري المباشر للبراز في معلق ملحي أو يودي مفيد للأسباب التالية:

- لكشف الأتاريف trophozoites المتحركة؛
- لكشف البيوض والكيسات الموجودة بأعداد معتدلة؛
- لكشف وجود الكريات الحمر أو حطام الخلايا أو الدهن الزائد.

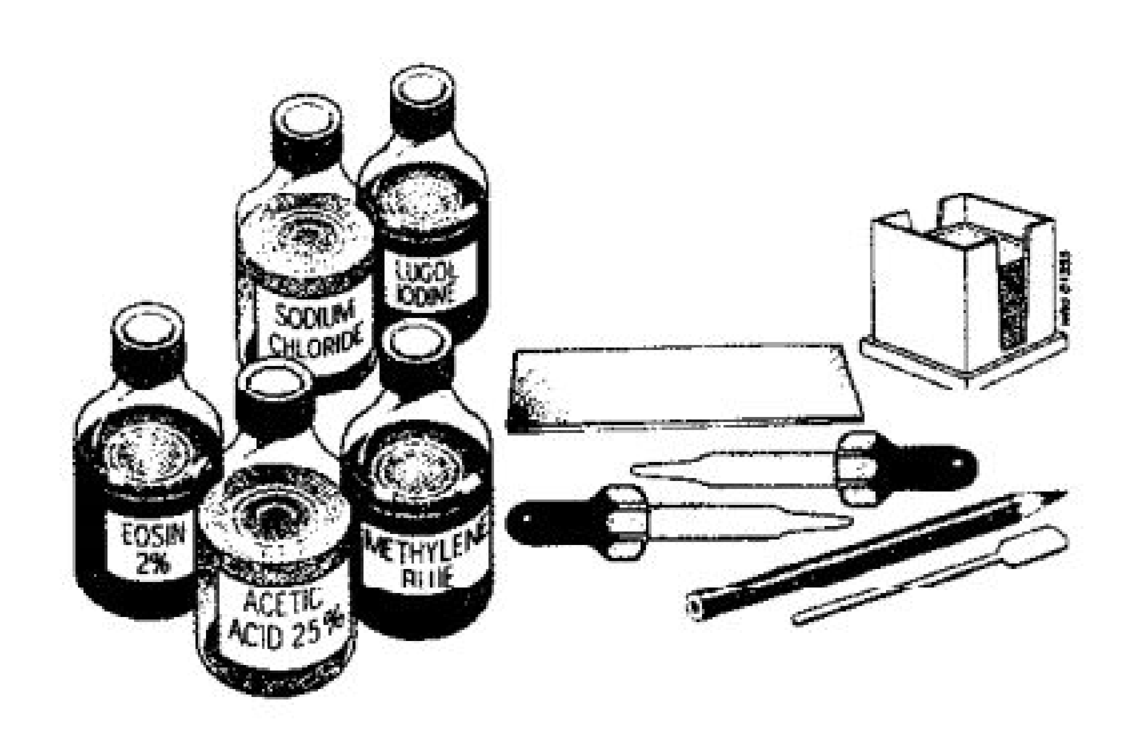
تُنتقى البرازات العديمة الشكل أو السائلة عند استعمال الفحص المجهري المباشر لكشف الأتاريف، مع العلم أنه نادراً ما تحتوي البرازات المتماسكة على أتاريف متحركة. يُجرى أيضاً فحص مباشر لأي دم أو مخاط ظاهر.

المواد والكواشف (الشكل 2.4)

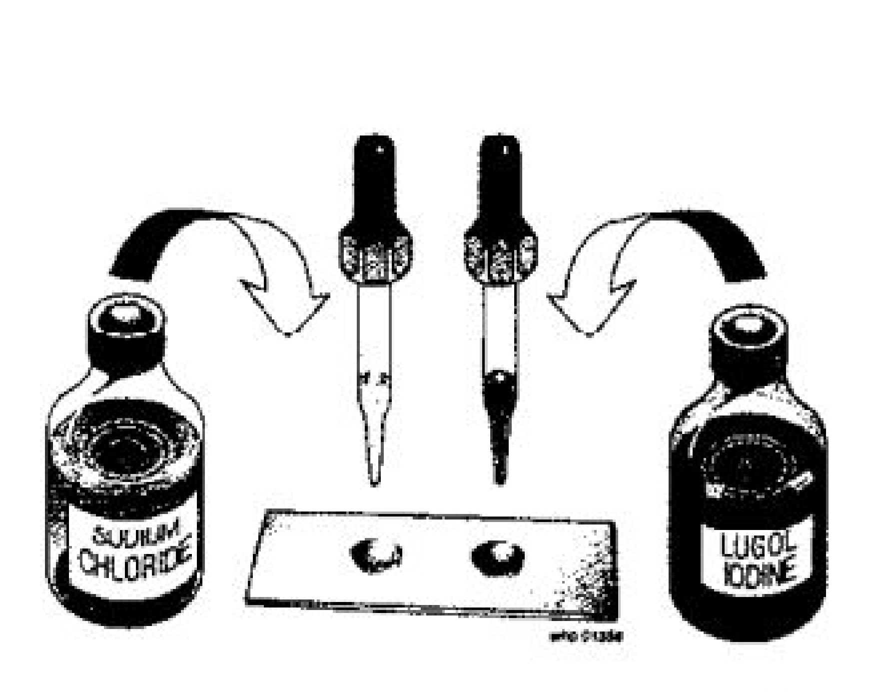
- مجهر ذو شيئية 10× وشيئية 40× .
- شرائح مجهرية.
- ساترات قياسها 20 مم × 20 مم .
- عيدان خشبية أو غانات سلكية (سلك من خليطة النيكل والكروم قياسه 0.45 مم).
- أقلام شمعية.
- كلوريد الصوديوم، محلول 0.85% (الكاشف رقم 53).
- لوغول اليودي، محلول 0.5% (الكاشف رقم 37)
- حمض الأسيتيك، محلول 50% (الكاشف رقم 3، مخففاً 1:1 بالماء المقطر).
- المحلول المائي لزرقة الميثيلين (الكاشف رقم 39).
- محلول اليوزين 2% في المحلول الملحي (الكاشف رقم 24).

الطريقة

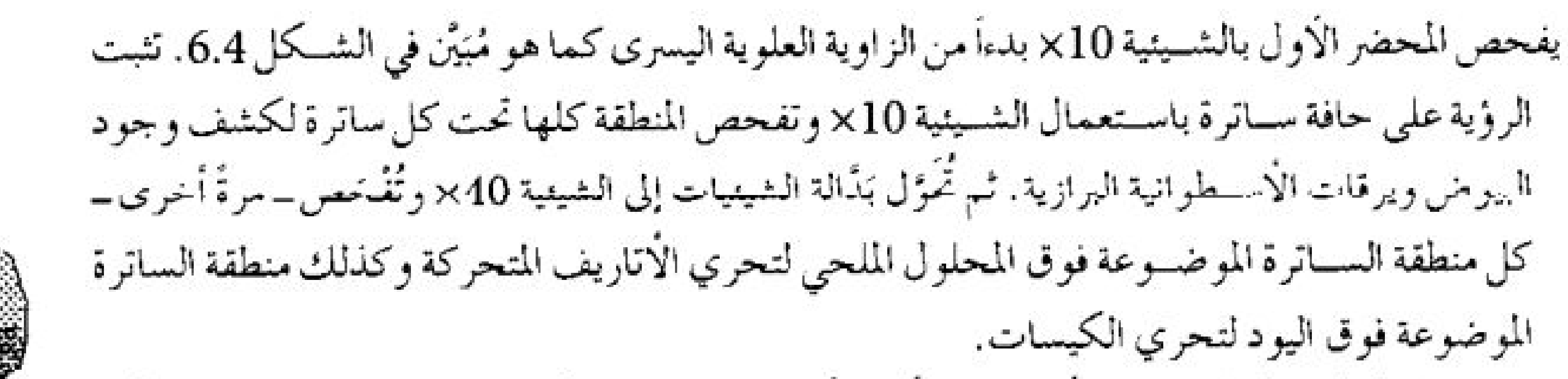
1. يحضر مزيج من محلول لوغول اليودي ومحلول حمض الأسيتيك (مخفف كما سبق ذكره). يخفف المزيج بأربعة حجوم من الماء المقطر ويحرك.
2. تؤخذ شريحة مجهرية جافة ويسجل عليها اسم أو رقم المريض .
3. يوضع:
   - قطرة واحدة من محلول كلوريد الصوديوم المُدَفّأ إلى الدرجة 37 س في وسط النصف الأيسر للشريحة؛
   - قطرة واحدة من المحلول اليودي في وسط النصف الأيمن للشريحة (الشكل 3.4).
4. يستعمل عود خشبي أو غانة (عروة) سلكية لأخذ مقدار قليل من البراز (بقطر حوالي 2–3 مم).
   (آ) إذا كان البراز متماسكاً، تؤخذ الأخيذة من أعماق العينة (الشكل 4.4) ومن السطح للبحث عن بيوض الطفيليات.
   (ب) وإذا كان البراز محتوياً على المخاط، أو سائلاً ، تؤخذ الأخيذة من سطح المخاط أو من سطح البراز السائل للبحث عن الأميبات.
5. تمزج الأخيذة مع قطرة محلول كلوريد الصوديوم على الشريحة.
6. يستعمل العود الخشبي أو الغانة (العروة) السلكية، لأخذ أخيذة ثانية من نموذج البراز، ومزجها بقطرة المحلول اليودي على الشريحة. يُرمى العود الخشبي (أو تُلهَّب الغانة السلكية) بعد الاستعمال.
7. تُستر كل قطرة بساترة (توضع الساترة كما هو مبين في الشكل 5.4 لتجنب تشكل فقاقيع هوائية).
8. تُفحص المحضرات بالمجهر، وتستعمل للمحضّر الملحي المدمجان الشيئيتان 10× و 40× والعينية 5×. ولما كانت البيوض والكيسات عديمة اللون فمن الضروري إنقاص كمية الضوء بتضييق فتحة المكثفة أو خفض المكثفة لزيادة التباين.



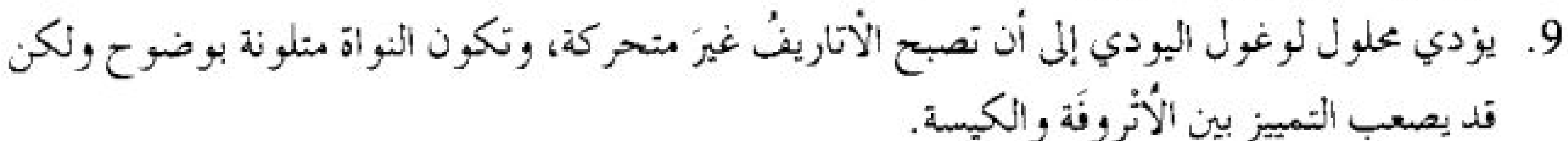
الشكل 2.4. المواد والكواشف اللازمة للفحص المجهري المباشر للبراز لتحري الطفيليات.



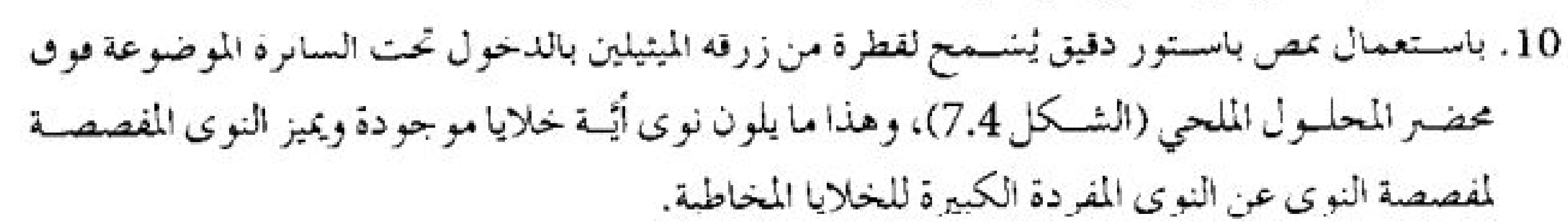
الشكل 3.4. إضافة قطرة من المحلول الملحي وقطرة من معلق اليود إلى الشريحة.



يفحص المحضر الأول بالشيئية 10× بدءاً من الزاوية العلوية اليسرى كما هو مُبَيَّن في الشكل 6.4. تثبت الرؤية على حافة ساترة باستعمال الشيئية 10× وتفحص المنطقة كلها تحت كل ساترة لكشف وجود البيوض ويرقات الأسطوانية البرازية. ثم تُحَوَّل بَدّالة الشيئيات إلى الشيئية 40× وتُفْحَص - مرةً أخرى - كل منطقة الساترة الموضوعة فوق المحلول الملحي لتحري الأتاريف المتحركة وكذلك منطقة الساترة الموضوعة فوق اليود لتحري الكيسات.



9. يؤدي محلول لوغول اليودي إلى أن تصبح الأتاريفُ غيرَ متحركة، وتكون النواة متلونة بوضوح ولكن قد يصعب التمييز بين الأُتْروفَة والكيسة.



10. باستعمال مص باستور دقيق يُنسمح لقطرة من زرقه الميثيلين بالدخول تحت السارة الموضوعة فوق محضر المحلول الملحي (الشكل 7.4)، وهذا ما يلون نوى أيَّة خلايا موجودة ويميز النوى المفصصة لمفصصة النوى عن النوى المفردة الكبيرة للخلايا المخاطية.
11. إذا أضيفت قطرة من اليوزين فإن الساحة كلها تتلون باستثناء الحيوانات الأوالي (وخاصةً الأميبات) التي تبقى عديمة اللون وبذلك يمكن التعرف عليها بسهولة.

الشكل 4.4. اعتيان (أخذ العينة) نماذج البراز لتحري بيوض الطفيليات.

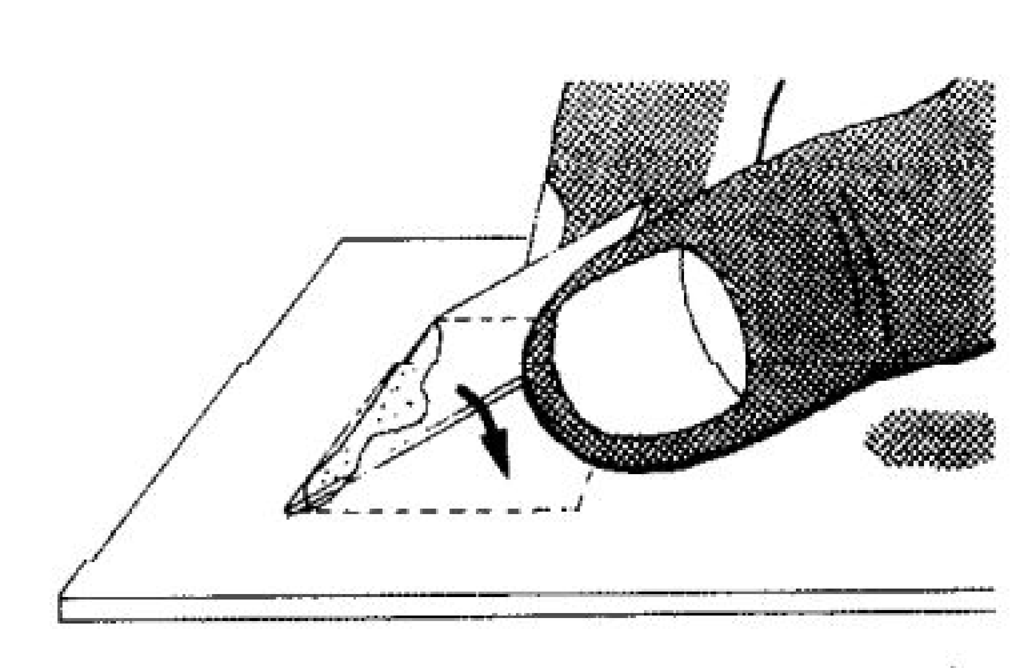


4.2.4 إرسال البراز لكشف الطفيليات

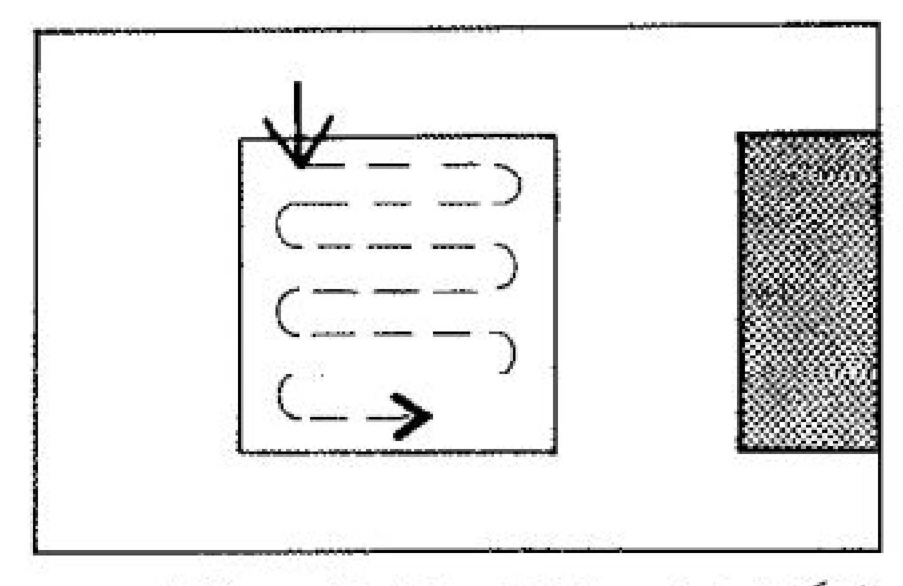
يمكن أن يرسل البراز إلى المختبر المختص لاستعراف (تعيين هوية) الطفيليات النادرة التي يصعب التعرف عليها. ويجب في هذه الحالات إضافة مادة حافظة إلى النماذج قبل إرسالها للفحص، والمواد الحافظة المستعملة هي التالية:

- محلول الفورمالدهيد 10% (الكاشف رقم 28) للتستير الرطب؛
- محلول لوغول اليودي 0.5% (الكاشف رقم 37)؛
- مثبت الكحول متعدد الفاينيل (PVA) (الكاشف رقم 44)؛

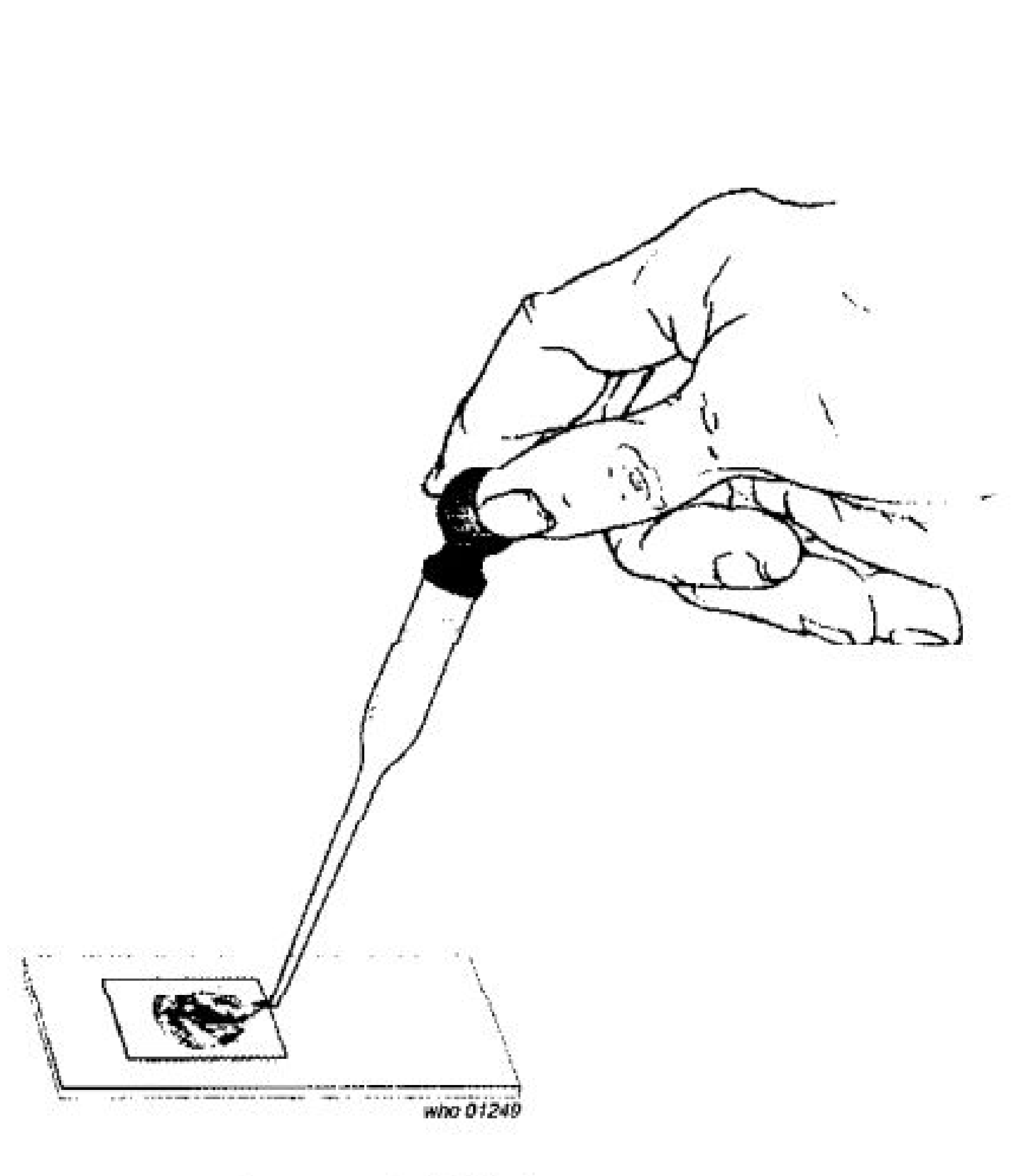
مثبت الثيومرسال-اليود-الفورمالدهيد (TIF) (الكاشف رقم 58) للتستير الرطب.



الشكل 5.4. كيفية تطبيق الساترة لتجنب تشكل فقاقيع هوائية.



الشكل 6.4. فحص المنطقة تحت الساترة لتحري الطفيليات.



الشكل 7.4. محضرات البراز الملحية بزرقة الميثيلين.



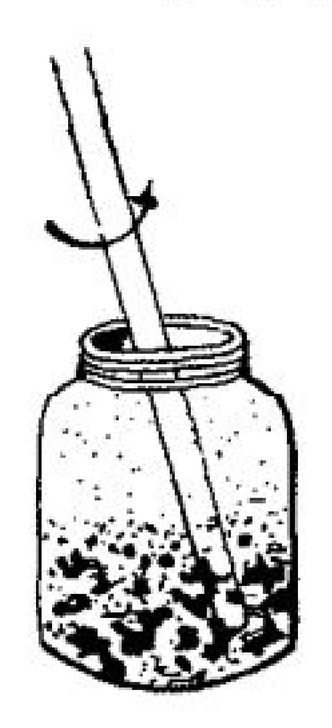
الشكل 8.4. حفظ نموذج البراز في محلول الفورمالدهيد.

استعمال محلول الفورمالدهيد 10%

1. يهيأ مزيج يحتوي على حوالي جزء من البراز إلى ثلاثة أجزاء من محلول الفورمالدهيد (الشكل 8.4).
2. يهرس البراز جيداً بقضيب زجاجي (الشكل 9.4).

يحفظ محلول الفورمالدهيد بيوض وكيسات الطفيليات. ويحفظ النموذج على الدوام إذا كانت القارورة مغلقة إغلاقاً محكماً.

غير أنه لا يحفظ الأشكال النابتة من الحيوانات الأوالي التي تتخرب بعد بضعة أيام.



الشكل 9.4. هرس نموذج البراز بقضيب زجاجي.

استعمال الكحول المتعدد الفاينيل (PVA)

في قارورة

1. يصب حوالي 30 مل من مثبت PVA في قارورة بحيث يملأ ثلاثة أرباعها.
2. يضاف مقدار كاف من البراز الطازج لملء الربع الأخير من القارورة بحيث تمتلئ الآن تماماً.
3. يمزج جيداً بقضيب زجاجي.

تحفظ كل أشكال الطفيليات بشكل دائم.

على شريحة

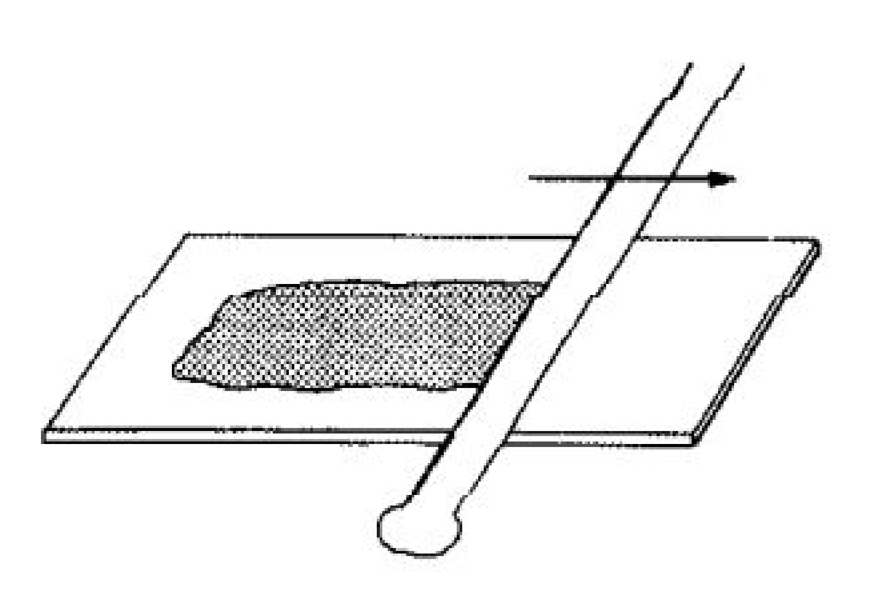
1. لفحص وتحري الأميبات والسوطيات توضع أخيذة صغيرة من البراز على إحدى نهايتي الشريحة.
2. يضاف 3 قطرات من PVA إلى البراز.
3. يُفرَش النموذج بعناية باستعمال قضيب زجاجي فوق حوالي نصف الشريحة (الشكل 10.4). تترك لمدة 12 ساعة لكي تجف (والأفضل بدرجة 37 س).

يمكن أن تنحفظ الشرائح بهذه الطريقة مدة ثلاثة أشهر. ويمكن أن تُلَوَّن عند وصولها إلى المختبر المختص.

استعمال محلول الثيومرسال 1 – اليود الفورمالدهيد (TIF)

1. قبل الإرسال مباشرةً يمزج 4.7 مل من محلول TIF و0.3 مل من محلول لوغول اليودي، في أنبوب أو قارورة صغيرة.
2. يضاف إليه 2 مل (2 سم3) تقريباً من البراز، ويهرس جيداً بقضيب زجاجي.

تنحفظ كل أشكال الطفيليات على الدوام بما فيها الأشكال النابتة للأميبات (أما نوابت السوطيات أو الأشكال النابتة منها فتتخرب بعض الشيء).



الشكل 10.4. توزيع نموذج البراز على شريحة.

الجدول 3.4 إمراضية الأوالي المعوية

النوع	الإمراضية
الأميبات	
الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج	الأميبة الوحيدة التي تكون ممرضة للبشر عادةً، ويمكن أن تسبب الزحار أو الخراجات
الأميبة (المتحولة) القولونية	غير ممرضة، ولكنها شائعة جداً
الأميبة (المتحولة) الهارتمانية، الونيدة القزمة، اليودميبة البوتشلية، الأميبة (المتحولة) الثنائية الهشة	غير ممرضة؛ وتمييزها صعب ولكنه غير ضروري فعلاً، ويكفي تمييز هذه الأنواع من المتحولة الحالة للنسج
السوطيات	
الجياردية المعوية	ممرضة
المشعرة البشرية	غير ممرضة
شفوية السياط المنيلية	غير ممرضة
المهدبات	
القربية القولونية	ممرضة

3.4 الأوالي protozoa المعوية

الحيوانـات الأوالي هـي مكروبـات تتألف من خلية واحـدة، ويمكن أن توجد الحيوانـات الأوالي المعوية في البراز بشـكلها المتحرك (الأتاريف trophozoites) أو بشـكل كيسات. ويكون بعض الحيوانات الأوالي المعوية ممرضـاً (الجدول 3.4)، بينما يكون بعضـها الآخر غير مؤذٍ. وتوجد هذه الحيوانات الأوالي كلها في كافة أنحاء العالم.

1.3.4 استعراف الأشكال المتحركة (الأتاريف trophozoites)

أتاريف الحيوانات الأوالي هي متحركة (الشكل 11.4) :

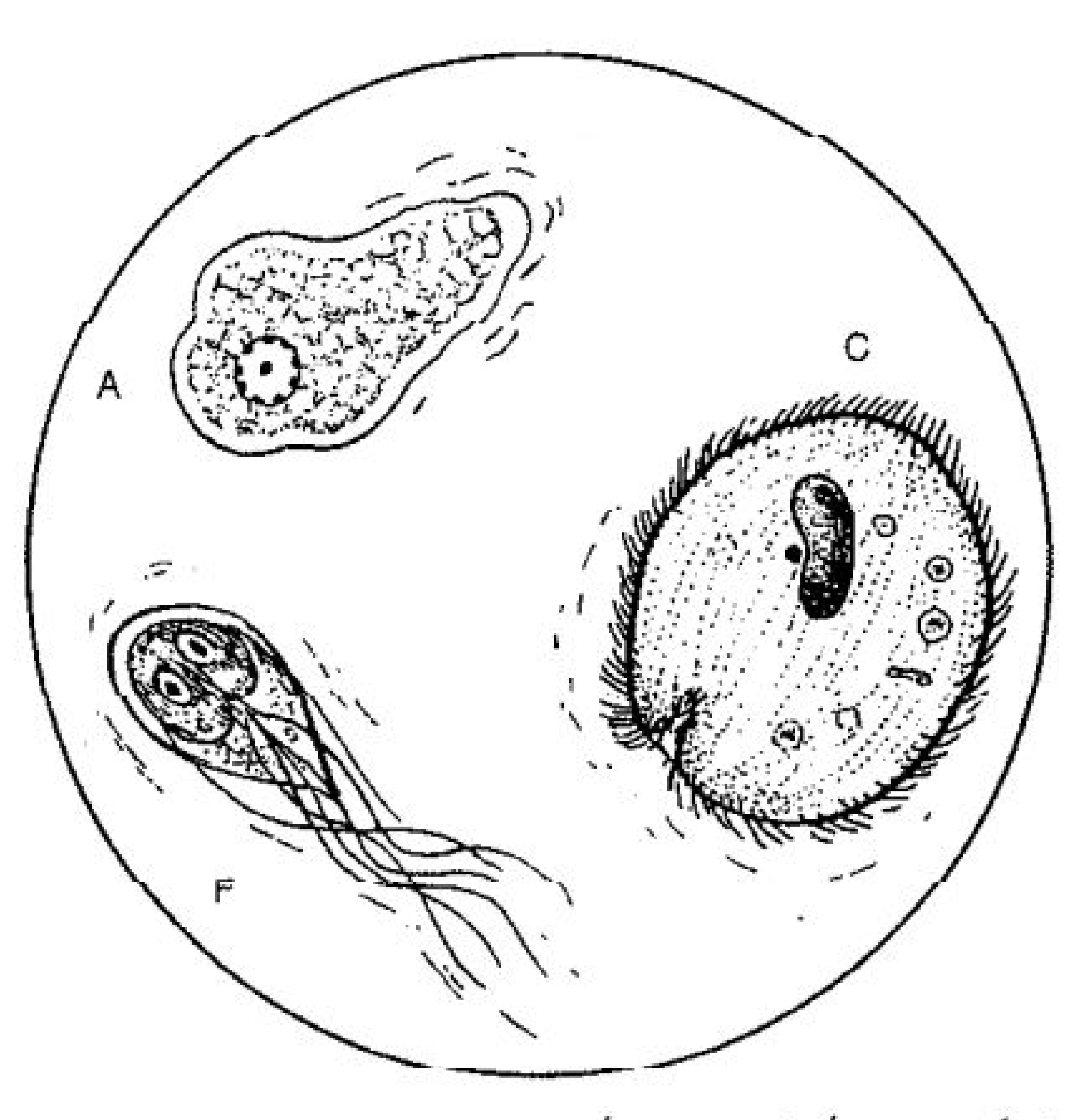
- إما بفضل حركات بطيئة للخلية نفسها (الأميبات)؛
- أو لأن لها سياطاً سريعة الحركة (خيوطاً طويلة كالسياط) أو أهداباً (أشعاراً قصيرة متعددة).

وتكشف الأتاريف بشكل رئيسي في:

- البراز السائل.
- البراز المحتوي على المخاط.
- البراز اللين المتماسك.

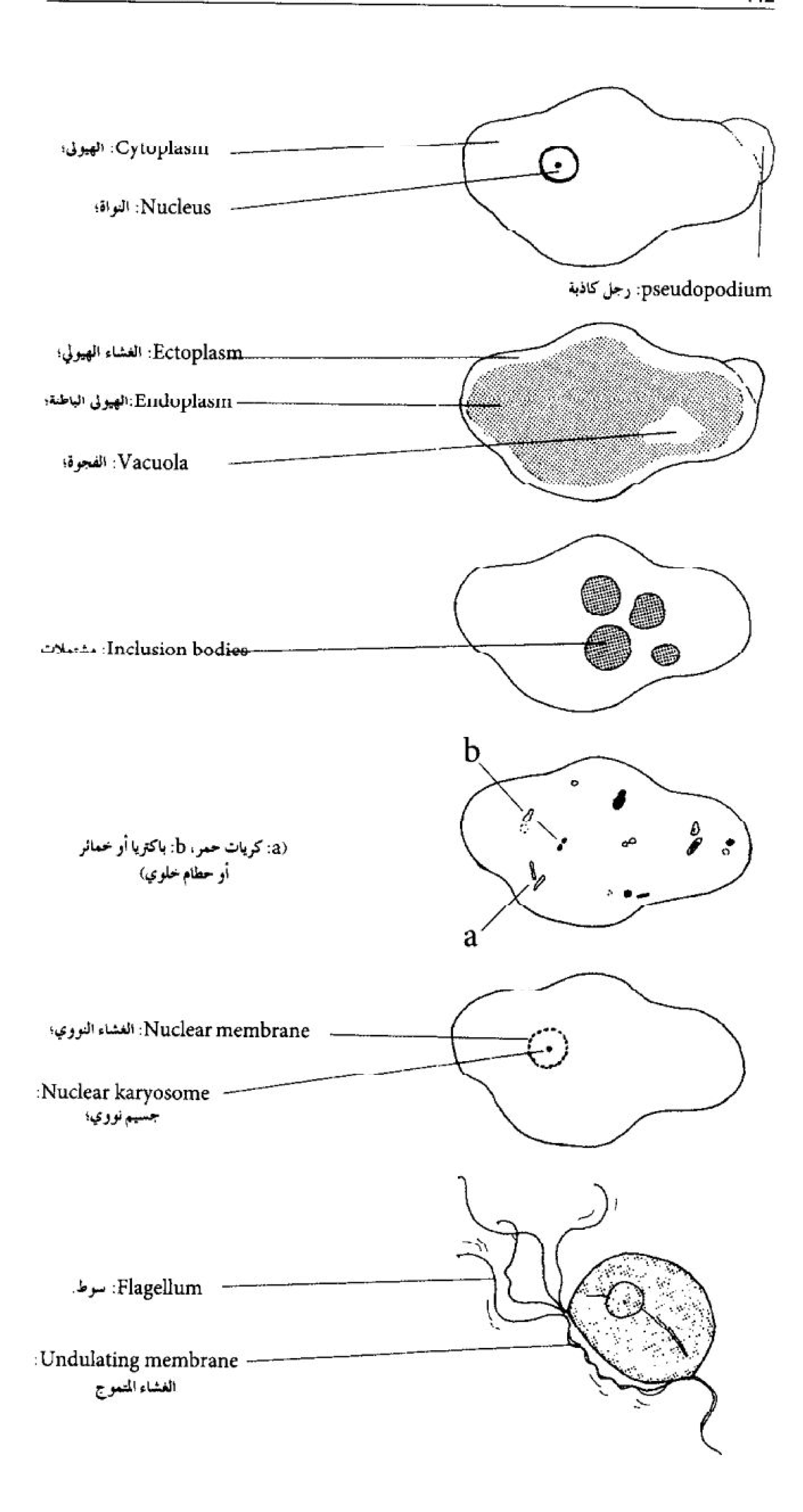
إن الملامـح التالية مفيدة لاسـتعراف (تعيـين الهوية) الأشـكال المتحركة من الحيوانات الأوالي المعوية (الشكل 12.4):

- الحجم.
- الهيولى.
- القدم الكاذبة.
- النواة.
- الهيولى الظاهرة .
- الهيولى الباطنة.
- الفجوات.
- المشتملات: كريات حمر، جراثيم، خمائر، حُطام...
- الغشاء النووي والكروماتين.
- الجسيم النووي.
- السوط.
- الغشاء المتموج.

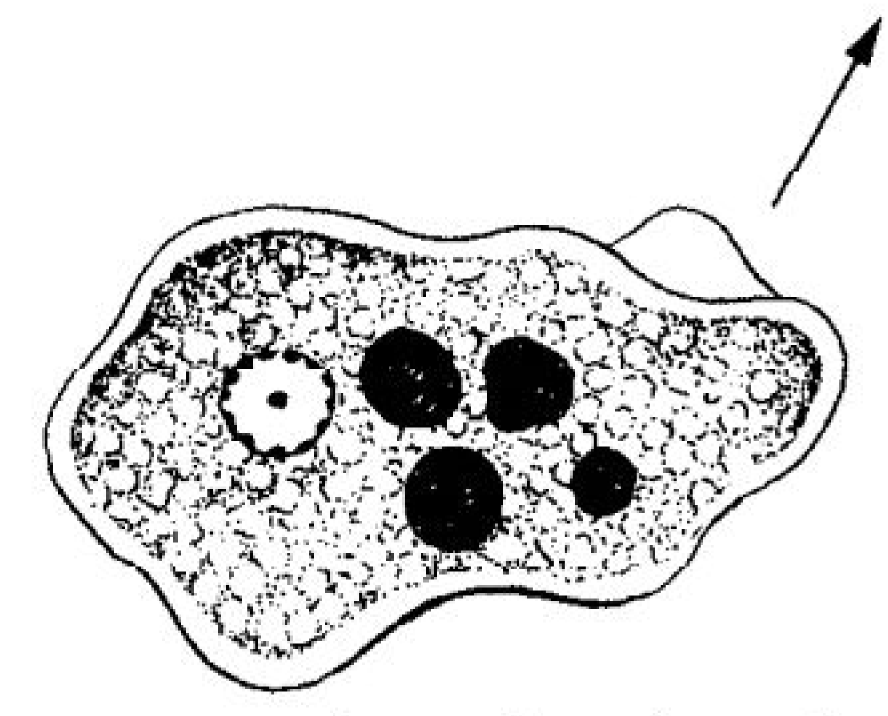


الشكل 11.4. **الأشكال المتحركة للأوالي**

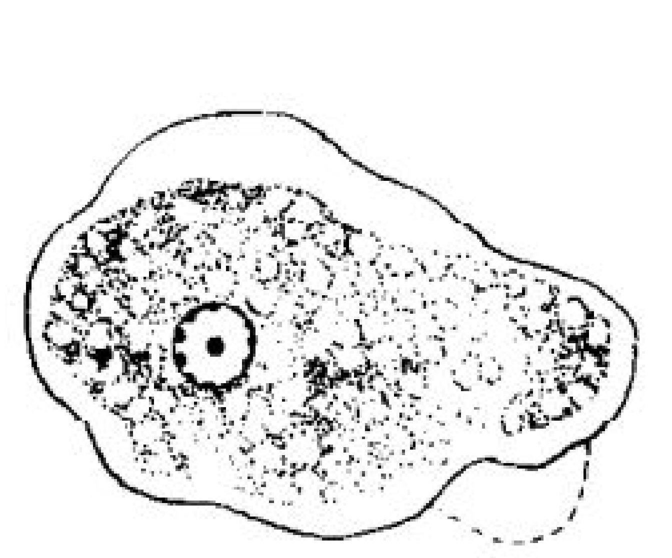
A: الأميبة؛ F: السائطة؛ C: المهدب أو المهدبة.



الشكل 12.4. الملامح المفيدة لاستعراف الأشكال المتحركة للحيوانات الأوالي.



الشكل 13.4. أتروفة الشكل الغزوي للأمبية (للمتحولة) الحالة للنسج.



الشكل 14.4. أتروفة الشكل غير الغزوي للأميبة (المتحولة) الحالة للنسج.

استعراف (تعيين هوية) الأشكال المتحركة للأمبات amoebae

الأميبة (المُتَحَوِّلَة) الحَالَّة للنسج Entamoeba histolytica (الشكلان 13.4 و 14.4)

الأميبة (المتحولة) للزحار.

الحجم: يتراوح ما بين 12 و 35 مكم عادة (بطول 3 أو 4 كريات حمراء عادةً).

الشكل: عندما تتحرك تكون متطاولة ومتحولة الشكل، وعندما لا تتحرك تكون مدورة.

التحرك: تتحرك في اتجاه واحد، تصدر عنها قدم كاذبة تندفع بها إلى الأمام وتتدفق الهيولى الباطنة ضمنها بمنتهى السرعة.

الهيولى: الهيولى الظاهرة شفافه وتختلف تماماً عن النسيج الحبيبي الناعم للهيولى الباطنة (رمادية مبقعة بالأخضر المصفر) التي يمكن أن تحتوي على فجوات.

النواة: لا تُرى في الأشكال المتحركة، ولكن عندما تلون بمحلول لوغول اليودي فإنها تُرى بوضوح ويبدو لها غشاء منتظم وجسيم نووي مركزي صغير كثيف (نقطة سوداء).

ويمكن وجود شكلان متحركان للأميبة (للمتحولة) الحالة للنسج في البراز السائل أو الإسهالي:

الشكل الغزوي (الشكل 13.4)

يقيس الشكل الغزوي 20–35 مكم، وهو ذو فجوات تحتوي على كريات حمراء مهضومة قليلاً أو كثيراً (1–20 من مختلف الأحجام) مما يدل على فعالية بالعة للدم وبالتالي مقدرة ممرضة.

الشكل غير الغزوي (انظر: الشكل 14.4)

الشكل غير الغزوي هو غير ممرض، ويعيش في جوف الأمعاء حيث يأكل الجراثيم وغيرها من المواد الموجودة في الأمعاء مما يمكن أن يرى في فجواته. وهو يقيس 12–20 مكم. (وقد صُنِّف الآن باسم الأميبة (المتحولة) المُتَغَيِّرَة E.dispar).

الأميبة القولونية E.coli (الشكل 15.4)

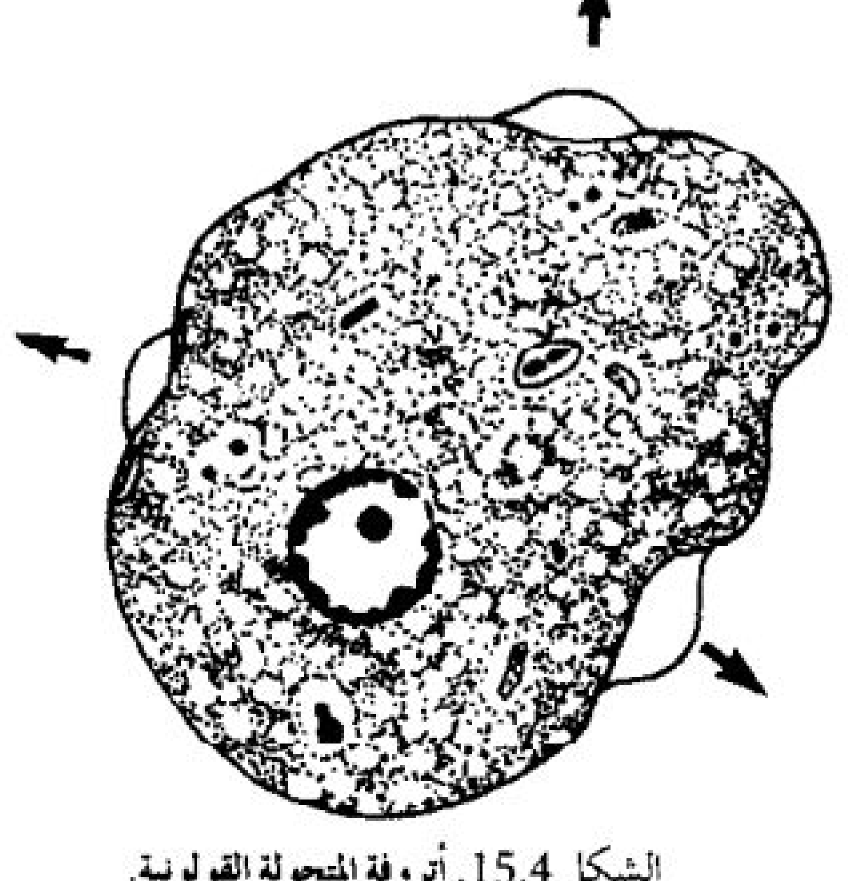
الحجم: 20–40 مكم (عادة أكبر من المتحولة الحالة للنسج).

الشكل: بيضاوية أو متطاولة وهي أميل إلى عدم الانتظام.

التحرك: في الغالب غير متحركة أو تتحرك ببطء شديد مخرجة أقداماً كاذبة قصيرة في كل الاتجاهات.

الهيولى: كلا الهيولى الظاهرة والباطنة حبيبية وصعبة التمييز.

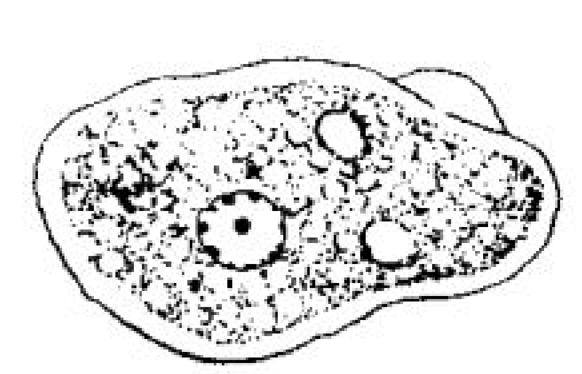
المشتملات: عديدة ومختلفة (جراثيم، خمائر، حطام خلوي)، ولكن لا يوجد فيها أبداً كريات حمراء.



الشكل 15.4. أتروفة المتحولة القولونية.

الجدول 4.4. الملامح المستعملة للتشخيص التفريقي للأميبة (للمتحولة) الحالة للنسج والمتحولة القولونية.

المظهر	المتحولة الحالة للنسج	المتحولة القولونية
الحركة	في اتجاه محدد	عشوائية
التحرك	معتدلة التحرك	غير متحركة أو قليلة الحركة
الهيولى الظاهرة	شفافة، متميزة تماماً عن الهيولى الباطنة	قليلة أو معدومة التميز عن الهيولى الباطنة
المشتملات	كريات حمر إن كانت بالعة للدم	جراثيم وخمائر وحطام متفاوت؛ لا توجد كريات حمر
النواة (في الحالة الرطبة)	غير مرئية	مرئية (الغشاء النووي كقلادة الخرز)
الغشاء النووي (بعد التلوين بالمحلول اليودي)	غشاء منتظم	غشاء غير منتظم
الجسيم النووي	صغير كثيف مركزي	كبير بعيد عن المركز


الشكل 16.4. أتروفة المتحولة الهارتمانية.

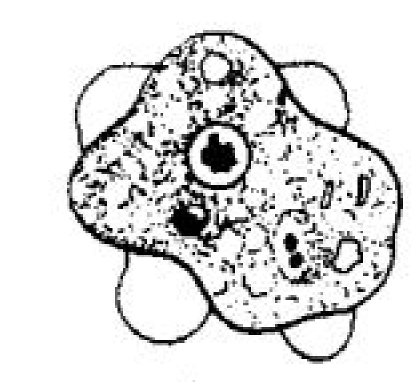
النواة: مرئية في الحالة الطازجة من دون تلوين؛ ويكون غشاؤها غير منتظم وحبيبياً (كأنه قلادة من الخرز)، ويكون الجسيم النووي كبيراً ومنزاحاً عن المركز.

يلخص الجدول 4.4 الملامح المستعملة للتشخيص التفريقي للأميبة (للمتحولة) الحالة للنسج والأميبة (المتحولة) القولونية. إذا كانت أتروفة ما تتحرك بسرعة في اتجاه واحد وتُصْدِر أقداماً كاذبة بسرعة فالمرجح أنها الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج، أما الأنواع الأخرى للأميبات فلا تتحرك بهذا الشكل عادةً. وإذا كانت الأتروفة تتحرك كما وُصِف وإذا كانت الكريات الحمر موجودة في الهيولى فيمكن الافتراض بأنها الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج. يمكن عند اللزوم استعمال زرقة الميثيلين المدروءة لتلوين النواة لإثبات التشخيص.

الأميبة (المتحولة) الهارتمانية (الشكل 16.4)

الحجم: صغيرة، ودائماً أقل من 10 مكم (حوالي حجم الكريّة الحمراء الواحدة).

كل خصائصها تشابه خصائص الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج ولكنها لا تحتوي أبداً على كريات حمراء، وقد يوجد فيها فجوات متميزة.


الشكل 17.4. أتروفة الوليدة القزمة.

الوُلَيدَة القَزَمَة (الشكل 17.4)

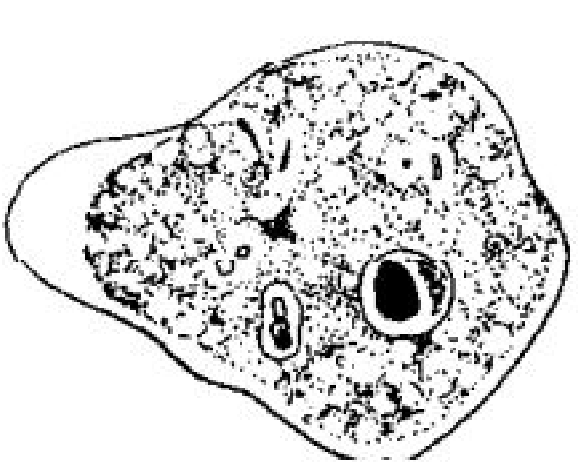
الحجم: صغير 6–10 مكم.

الحركة: أقدام كاذبة مدورة صغيرة كثيرة تتحرك ببطء في كل الاتجاهات.

الهيولى: حبيبية جداً مع فجوات صغيرة.

المشتملات: متعددة (وهي جراثيم بالدرجة الأولى).

النواة: (بعد التلوين بالمحلول اليودي) الجسيم النووي يشبه بقعة الحبر.



الشكل 18.4. أتروفة اليودمية البوتشلية.

اليودَميبَة البوتشليَّة (الشكل 18.4)

الحجم: متوسطة الحجم 10–15 مكم.

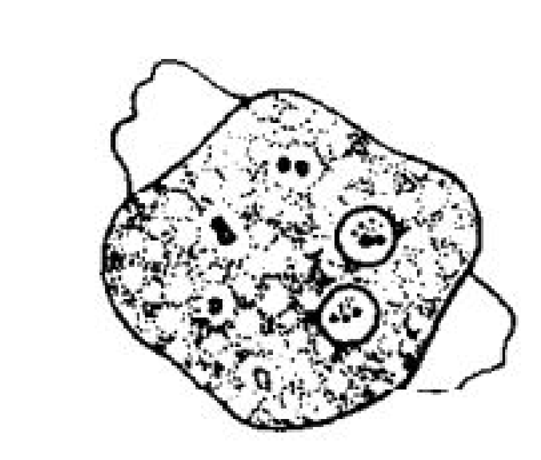
الشكل: مكتنزة بشكل ورقة الشجر.

التحرك: بطيئة جداً، بأقدام كاذبة رائقة مدورة أو إصبعية الشكل.

المشتملات: جراثيم وفجوات كبيرة.

النواة: (بعد التلوين بالمحلول اليودي) جسيم نووي بيضاوي كبير إلى جانب مجموعة من الحبيبات.

نادراً ما ترى أميبات اليودميبة البوتشلية في البراز.


الشكل 19.4. أتروفة المتحولة الثنائية الهشة.

المتحولة الثنائية الهشة (الشكل 19.4)

الحجم: 6–15 مكم.

الشكل: مدورة

التحرك: إما غير متحركة (وهو الأغلب) أو متحركة جداً (في البراز السائل الطازج جداً) بأقدام كاذبة تشبه شفرات أو ريش المروحة الكهربائية وسرعان ما تصبح غير متحركة تحت الساترة.

الهيولى: هيولى ظاهرة رائقة.

المشتملات: جراثيم.

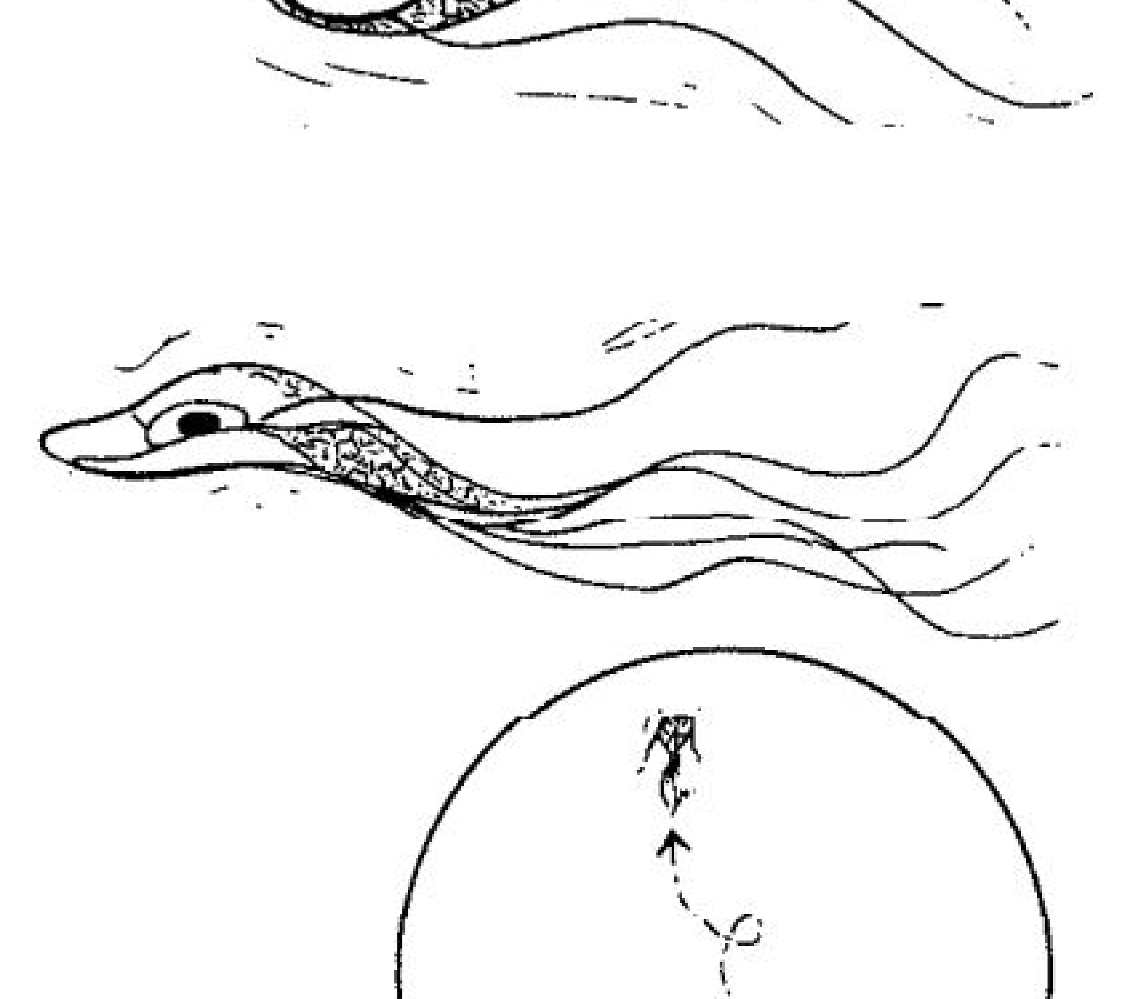
النـواة: (بعـد التلوين بالمحلول اليودي) نواة واحدة أو اثنتان، والجسـيم النووي منقسـم إلى 4–6 حبيبات (ويرى الغشاء بصعوبة).

استعراف الأشكال المتحركة للسوطيات flagellates

كل هذه الطفيليات باسـتثناء المشـعرة البشرية يمكن أن تظهر بشكل سـوطي نابت VegetatiVe نشيط أو بشكل كيسات خاملة.

الجِيارْدِيَّة المعوية (الشكل 20.4)

الحجم: 10–18 مكم (حجم كريتين حمراوين).



الشكل 20.4. أتروفة الجياردية اللمبلية.

الشكل: أميل إلى التطاول.

المظر الأمامي: بشكل الكمثرى.

المنظر الجانبي: بشكل الملعقة.

التحرك: إما أن تتحرك إلى الأمام باهتزازات سريعة صغيرة في اتجاه معين، وأحياناً تدور بشكل حلقات متتالية (البراز السائل)، أو تتحرك بصعوبة.

النوى: نواتان بيضاويتان كبيرتان تريان بشكل باهت.

ملاحظة هامة:

- إن الحركة المميزة ترى فقط في البراز السائل الطازج.
- إن الرقائق المخاطية في البراز الســائل تحتوي غالباً على أكوام من أعداد كبيرة للجياردية المعوية.
- الأشكال النابته والكيسيه للجيارديه المعويه توجد غالباً معاً في البراز اللين.



المُشَعَّرَة البشرية (الشكل 21.4)

الحجم: 10–15 مكم (أصغر بقليل من الجياردية المعوية).

الشكل: بيضاوي ذات قطبين مؤنفين.

التحرك: تُدَوِّم وتدور في كل الاتجاهات وكأنها تهتز.

الغشـاء المتمـوج: يوجد علـى جانب واحد فقـط وهو متحـرك للغاية (بحركة موجية سريعة).

النواة: نواة واحدة تصعب رؤيتها.

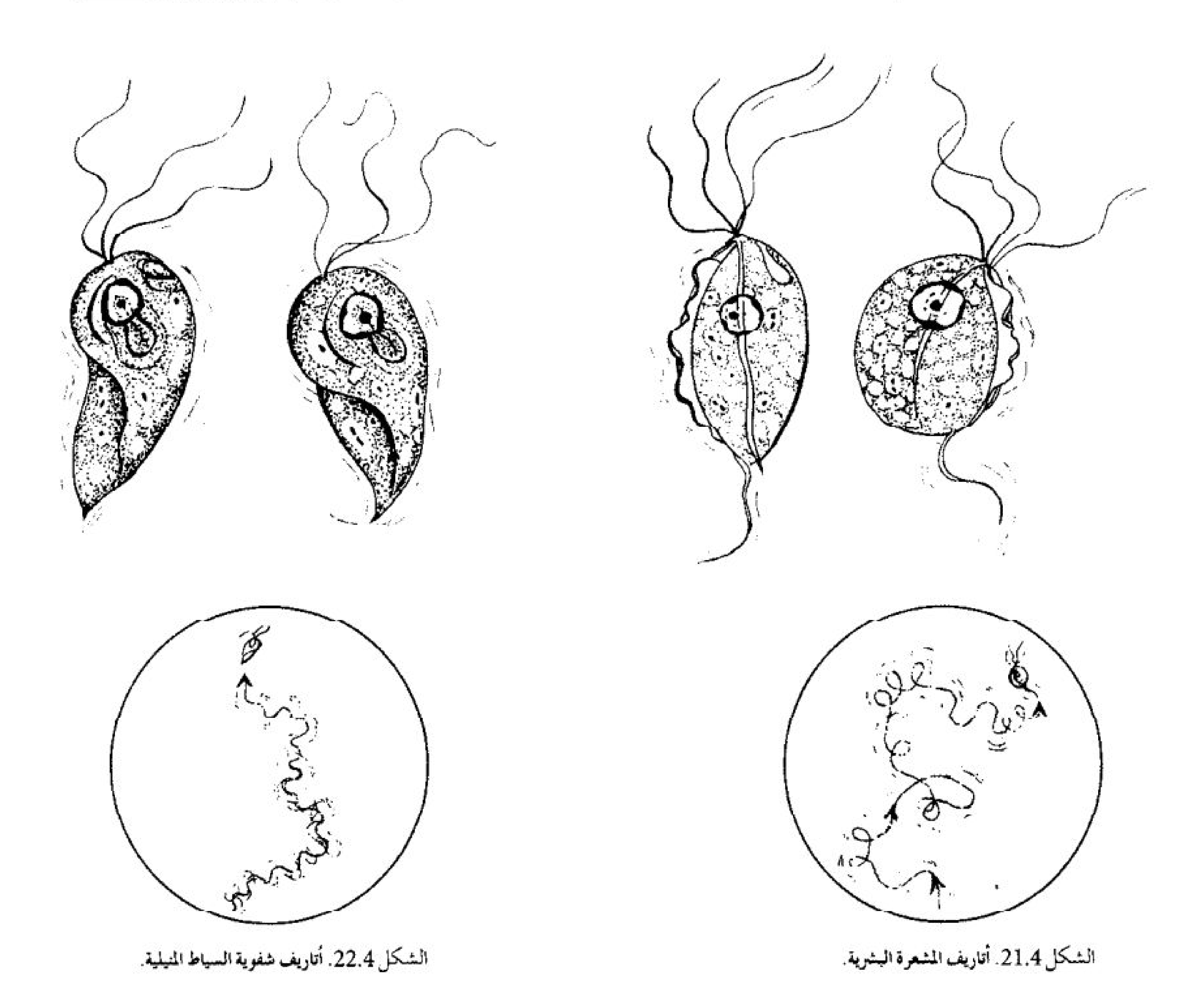
السياط: أربعة عادةً.

المشعرة البشرية هي أكثر السوطيات مقاومة، و تبقى متحركة حتى في البراز القديم .

شفوية السياط المَيْنِلِيَّة (الشكل 22.4)

الحجم: 10–15 مكم. الشكل: مثلثية ونحيلة في إحدى نهايتيها، وتبدو متعرجة.

التحرك: تتحرك في اتجاه واحد محدد بشكل حلزوني.



الشكل 21.4. أتاريف المشعرة البشرية.

الشكل 22.4. أتاريف شفوية السياط المنيلية.

الهيولى: رمادية مخضرة يبدو فيها:

- باتجاه النهاية النحيلة: علامة مميزة حلزونية الشكل يلتف السائط حولها (بشكل رقم 8).
- قرب النهاية المدورة: شق مشابه للفم (مَثْغَر cytostome مرئي بشكل باهت).

النواة: نواة واحدة يسهل رؤيتها في المحضرات غير الملونة.

استعراف الأشكال المتحركة للمُهَدَّبات ciliates

القِرْبِيَّة القولونية (نادرة) (الشكل 23.4)

الحجم: كبير جداً 50 مكم .

الشكل: بيضاوية ذات قطبين أحدهما أكثر استدارة من الآخر، وهي شفافة.

الأهداب: مغطاة بكثير من الأهداب الصغيرة التي تتحرك بضربات سريعة متلاحقة.

التحرك: تتحرك بسرعة كبيرة في البراز وتقطع الساحة في اتجاه محدد، وأحياناً تدور في دورات.

الهيولى: شفافة .

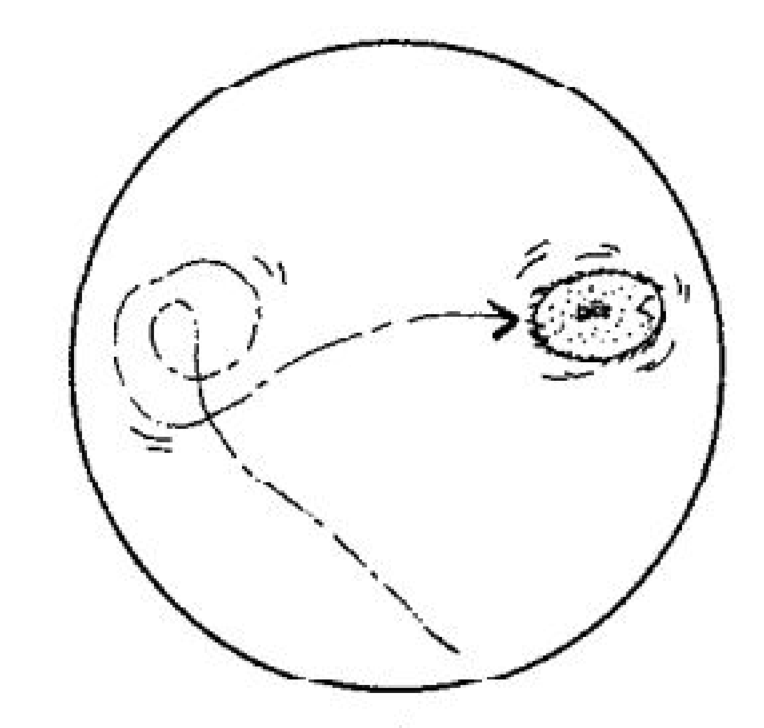
النواة: نواة كبيرة بشكل الكلية وبجوارها نواة مدورة صغيرة.

"الفم": المَثْغَر وهو نوع من الأفواه يتقلص ويتمدد فيسحب إليه الحُطام.

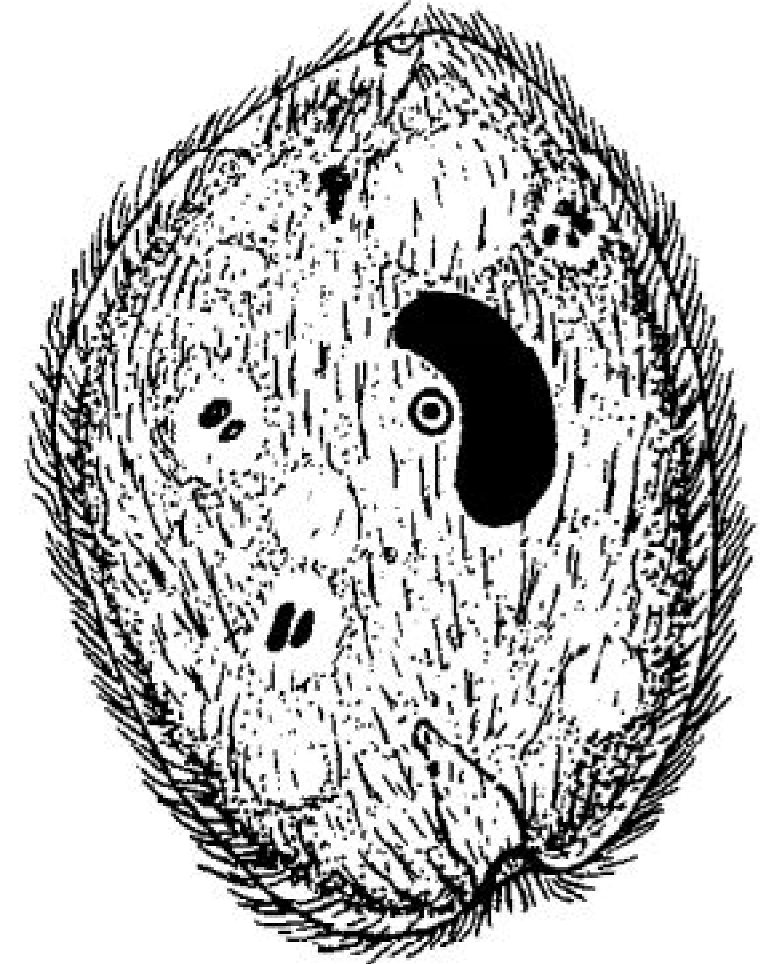
ملاحظة هامة: إذا ترك البراز معرضاً للهواء دون غطاء فإن بعض الكائنات الحية من نمط النَّقاعِيَّات infusoria يمكن أن تقع عليه من الجو فتبدو وكأنها قربيات قولونية.

ملون فيلد السريع لتحري أتاريف البراز

المواد والكواشف



- مجهر
- شرائح مجهرية
- رفرف الشرائح
- ملون فيلد (الكاشف رقم 25):
  - ملون فيلد آ (غير مُخَفَّف).
  - ملون فيلد ب (مخفف جزء واحد من الملون في 4 أجزاء من الماء المقطر).
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- الميثانول.



الشكل 23.4. أتروفة القربية القولونية Blanatidium coli،

الطريقة

1. تُحَضَّر لطاخة رقيقة من البراز في المحلول الملحي على شريحة نظيفة.
2. حالما تجف اللطاخة تُثَبَّت بغمر الشريحة بالميثانول لمدة 3 دقائق.
3. يُراق الميثانول.
4. يُمَصّ 1 مل من ملون فيلد ب المخفف ويوضع فوق الشريحة، ويُتْبَع بوضع 1 مل من ملون فيلد آ غير المخفف.
5. يمزج جيداً بتمييل الشريحة وتُتْرَك لتتلون لمدة دقيقة واحدة.
6. تغسل الشريحة في الماء وتترك لتجف بالهواء.
7. تفحص الشريحة باستعمال الشيئية الغاطسة حيث تفحص بدقة بكاملها وخصوصاً حول الحواف.



النتائج

تتلون هيولى وسياط أتاريف الجياردية المعوية بالأزرق وتتلون نواها بالأحمر، كما تتلون كيسات الجياردية المعوية بالأزرق ونواها بالأحمر أيضاً.

ملاحظة:

- تَترك الملونات المحضرة بشكل طازج لمدة 3 أيام قبل الاستعمال.
- يُستعمل ماء المطر لتحضير الملونات إذا كانت مياه الآبار التي يتم الإمداد بها محلياً مالحةً جداً.
- تُغَطّى المرطبانات المحتوية على محاليل التلوين لاتقاء التبخر وامتصاص الغبار.
- يجب تجنب الاحتفاظ بمحلول التلوين المستعمل لإجراء تلوين جديد به.

ملون اليوزين لتحري أتاريف وكيسات البراز

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- رفرف الشرائح
- ساترات
- يوزين محلول 1% (الكاشف رقم 23)

الطريقة

1. يُسْتَخلَص جزء صغير من البراز في محلول اليوزين 1% على شريحة نظيفة، ويفرش فوق منطقة 2سم×1سم تقريباً.
2. توضع ساترة على الشريحة ثم توضع الشريحة على رف المجهر.
3. تُستعمل الشيئية 10× لفحص اللطاخة بشكل منهجي لتحري الأتاريف والكيسات غير المتلونة، ثم يجرى الفحص بتفصيل أكبر باستعمال الشيئية 40×.

يفيد محضر اليوزين عندما يفحص البراز لتحري أتاريف وكيسات الحيوانات الأوالي إذ أنه يؤمن خلفيةً وردية في حين تبقى الأتاريف والكيسات غير متلونة وتُرى بشكل أوضح.
ملاحظة : إذا لم يكن محلول اليوزين 1% متوافراً تُستعمل قطرة من ملون فيلد ب (انظر: أعلاه).

2.3.4 استعراف الكيسات

الكيسات أشكال مقاومة لبعض الأميبات والسوطيات والمهدبات المعوية. وهي صغيرة ومدورة وغير متحركة، وقد يكون فيها نواة واحدة أو عدة نوى.
إن قياس الكيسات مفيد لاستعراف الأنواع بشكل صحيح.

أهمية الكيسات

تختلف الأهمية السريرية للكيسات من بلد إلى بلد؛ والكيسة هي الشكل المُعْدي من الكائن الحي organism، ويمكن أن يكون الأشخاص الأصحاء حَمَلَةً للكيسات عديمي الأعراض وبالتالي فهم خطر على الصحة العامة.

إن المشكلة الأكثر أهمية في المختبر هي الاستعراف الدقيق لكيسات الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج والجياردية المعوية والقربية القولونية. وقد وُضِّحت بعض الملامح المستعملة في استعراف كيسات الحيوانات الأوالي المعوية في الشكل 24.4.

استعراف كيسات الأميبات

الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج (الشكل 25.4)

الحجم: 12–15 مكم (1–2 كرية حمراء).

الشكل: مدورة.

النوى: 1–4 نوى:

غشاؤها رقيق منتظم مدور.

جسيمها النووي صغير مكتنز مركزي (كنقطة سوداء).

الهيولى: (بعد التلوين بالمحلول اليودي) رمادية مصفرة وحبيبية مما يعطيها مظهراً "قذراً".

الأجسام الصِبْغَانِيَّة: متطاولة مدورة النهايات (بشكل النقانق أو السُجُق)، وهي غير موجودة في كل الكيسات.

الفجوة: توجد أحياناً فجوة غليكوجينية كبيرة (تتلون بالبني المحمر في المحلول اليودي) في الكيسات الفتية التي فيها نواة واحدة أو نواتان.

يمكن للأميبة (للمتحولة) الحالة للنسج أن تسبب الزحار؛ وقد يكون من الصعب استعراف كيسات الأميبات الأخرى التي لا تسبب المرض ولكن الشيء الرئيسي هو التمييز بينها وبين كيسات المتحولات الحالة للنسج.

الأميبة (المتحولة) القولونية (الشكل 26.4)

الحجم : 12–20 مكم (1–2 كرية حمراء، وهي أكبر بقليل من كيسة الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج).

الشكل: مدورة أو بيضاوية قليلاً، وأحياناً غير منتظمة.

النوى: 1–8 نوى:

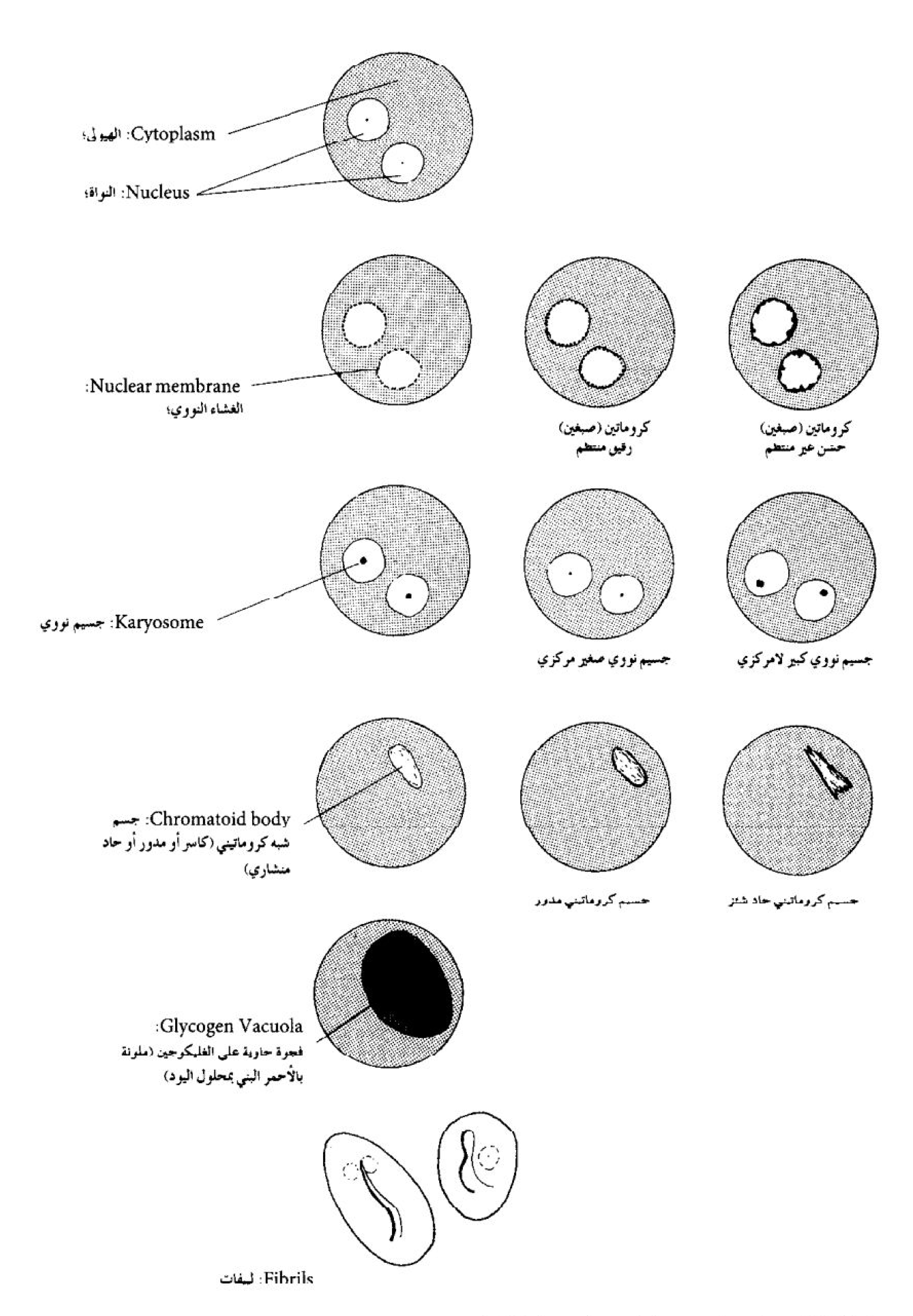
غشاؤها غير منتظم ثخين في بعض أجزائه ولا يؤلف دائرة كاملة.

جسيمها النووي كبير مكتنز وفي الغالب غير مركزي.

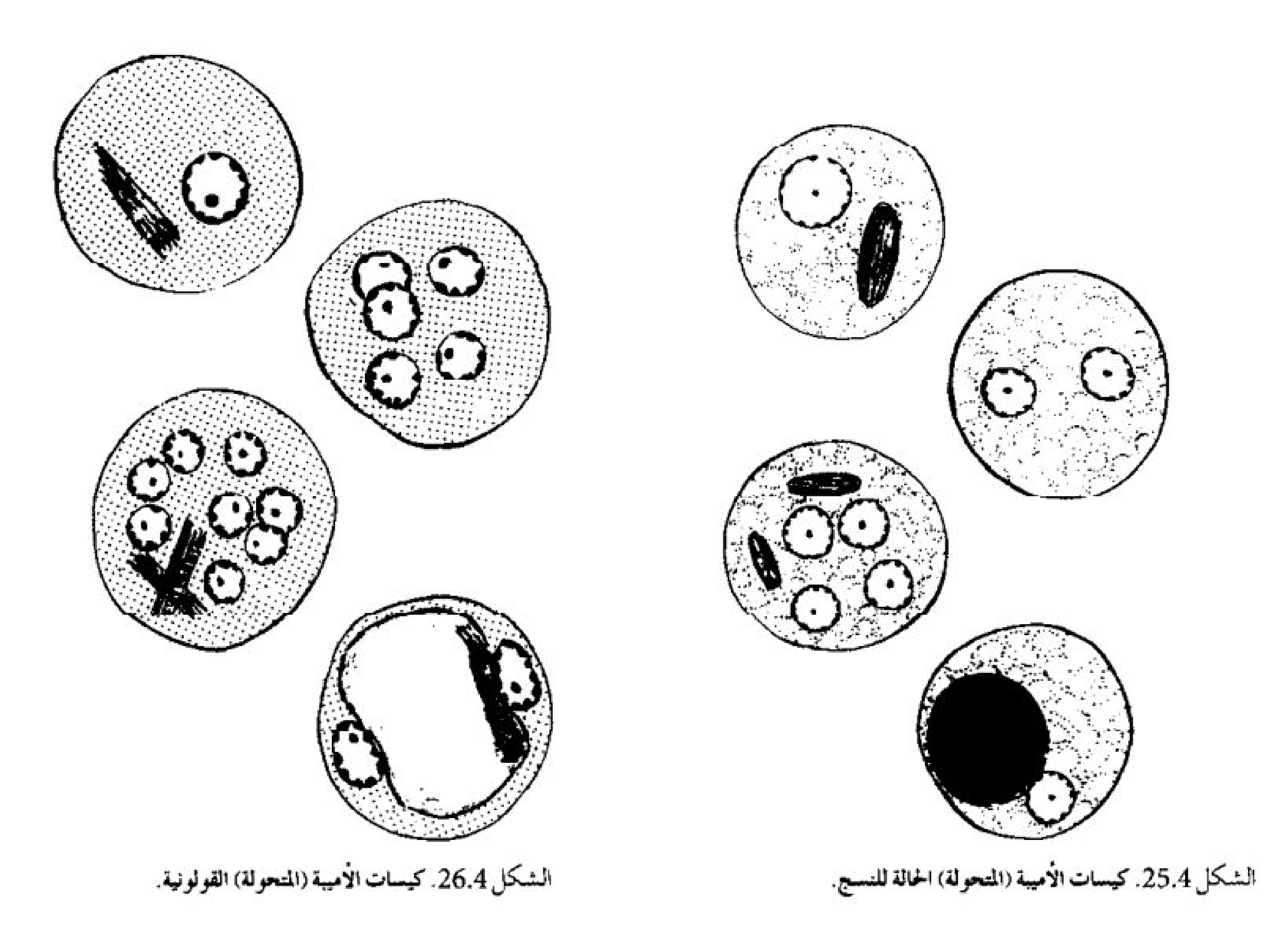
الهيولى: (بعد التلوين بالمحلول اليودي) صفراء شاحبة لامعة (بالمقارنة مع كيسة الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج).

الأجسام الصبغانية: نهايات حادة شَبِزَة (بشكل الإبر)، وهي غير موجودة في كل الكيسات.

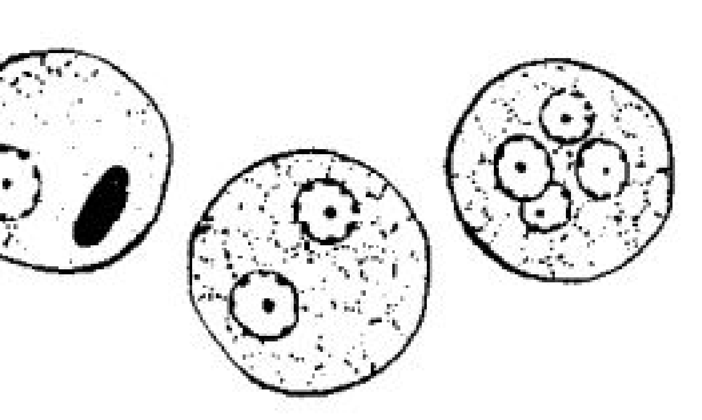
الفجوة: توجد أحياناً فجوة كبيرة (تتلون بالبني المحمر بالمحلول اليودي) تنحشر بين نواتين فتدفع بكل منهما إلى أحد القطبين.

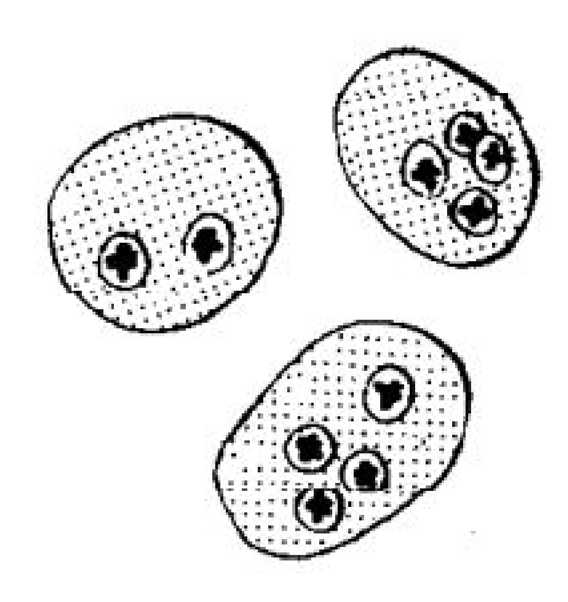


الشكل 24.4. بعض الملامح المفيدة لاستعراف كيسات الحيوانات الأوالي المعوية.


الشكل 25.4. كيسات الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج.

الشكل 26.4. كيسات الأميبة (المتحولة) القولونية.


الشكل 27.4. كيسات المتحولة الهارتمانية.


الشكل 28.4. كيسات الوئيدة القزمة.

الأميبة (المتحولة) الهارتمانية (الشكل 27.4)

الحجم: 4–8 مكم (نفس قطر الكرية الحمراء).

النوى: 1–4 تشابه نوى المتحولة الحالة للنسج (انظر أعلاه).

الوئيدة القزمة (الشكل 28.4)

الحجم: 8–10 مكم.

الشكل: بيضاوية قليلاً أو كثيراً.

النوى: 1–4 نوى :

غشاؤها لا يمكن أن يرى.

جسيمها النووي كبير وغير منتظم المحيط.

الهيولى: رائقة دون حبيبات تتلون باللون الأصفر بالمحلول اليودي.

اليودميبة البوتشلية (الشكل 29.4)

الحجم: 8–10 مكم.

الشكل: مختلف (مدور أو بيضاوي أو غير منتظم).

النواة: دائماً نواة مفردة .

غشاؤها لا يمكن أن يرى.

جسيمها النووي كبير جداً وبيضاوي ومضغوط بكومة من الحبيبات.

الفجوة: فجوة غليكوجينية كبيرة جداً (تتلون بالأحمر البني بالمحلول اليودي ومن هنا أتى اسمها اليودميبة) وتشغل غالباً نصف الكيسة.

الأميبة (المتحولة) الثنائية الهشة

لا توجد بشكل كيسات.

استعراف كيسات السوطيات

الجاردية المعوية (الشكل 30.4)

الحجم: 8–12 مكم.

الشكل: بيضاوية، أحد قطبيها أكثر استدارة من الآخر.

القشرة: يظهر في الغالب قشر ثخين مضاعف الجدار، والحقيقة أن الجدار الثاني ما هو إلا غشاء الهيولى.

النوى: 2–4 نوى بيضاوية (لا ترى بوضوح في الكيسة في المحضر غير الملون):

غشاؤها ناعم جداً.

جسيمها النووي صغير مركزي شاحب التلون.

الهيولى: رائقة لامعة عندما تكون غير ملونة، وتتلون بلون أخضر مصفر شاحب أو مزرق بعد التلوين بالمحلول اليودي.

الشكل 29.4. كيسات اليودميبة البوتشلية.

اللُّيَيْف: تشبه الأشعار وهي لامعة ومَثْنِيّة بشكل رقم 2 أو حرف S، وتستقر متطاولة في وسط الكيسة (تتضح بإحكام المجهر).

شفوية السياط المنيلية (الشكل 31.4)

الحجم: 6–8 مكم.

الشكل: مدورة أحد قطبيها نحيل (كالكمثرة).

النواة: نواة كبيرة مفردة:

غشاؤها يرى بوضوح وهو ثخين في بعض أجزائه.

جسيمها النووي صغير ومركزي.

اللُّيَيْف: ملتوية كالشعر الجَعْد.

استعراف كيسات المهدبات

القربية القولونية (الشكل 32.4)

الحجم: من 50–70 مكم (بحجم بيضة الأسكاريس).

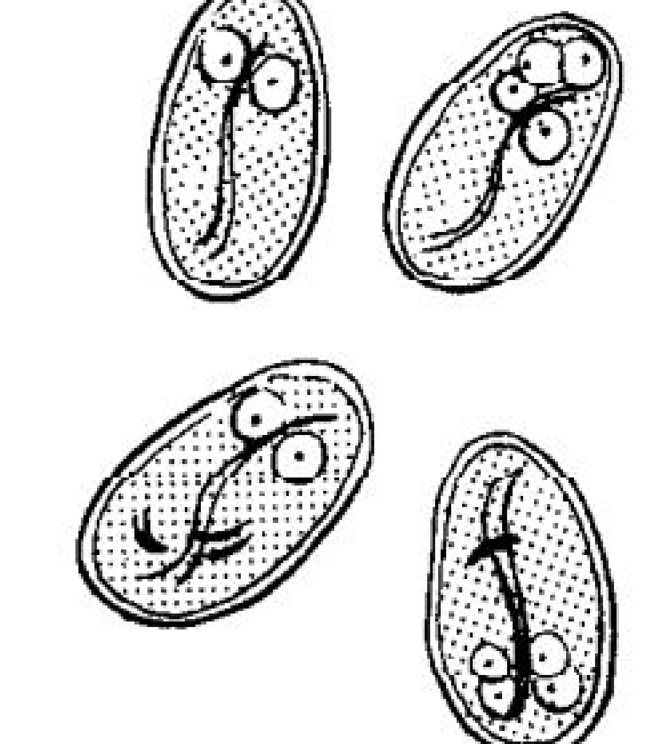
الشكل: مدورة.

القشرة: رقيقة مضاعفة الجدار.

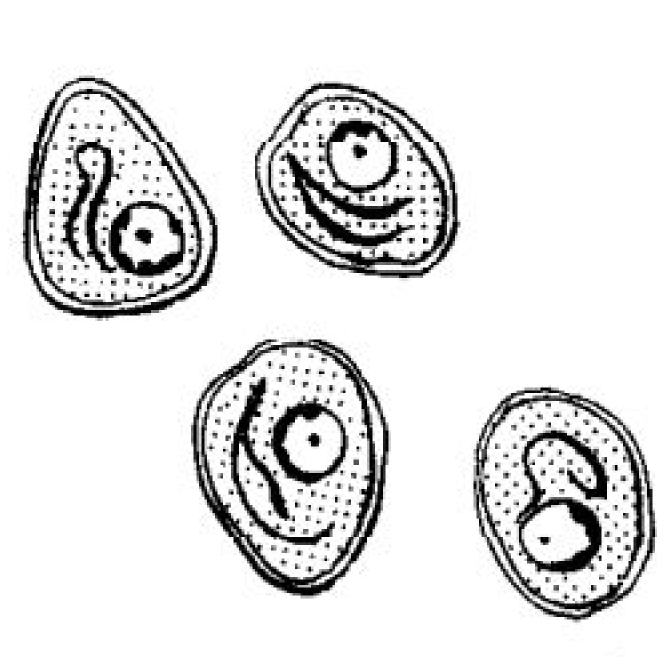
النوى: نواة كبيرة بشكل الكلية تجاورها نواة صغيرة مدورة.

الهيولى: حبيبية مخضرة مملوءة بالمشتملات.

كثيراً ما تُرى، شكل الأتروفة (ص119) داخل هذه الكيسة بشكل باهت (بصعوبة).



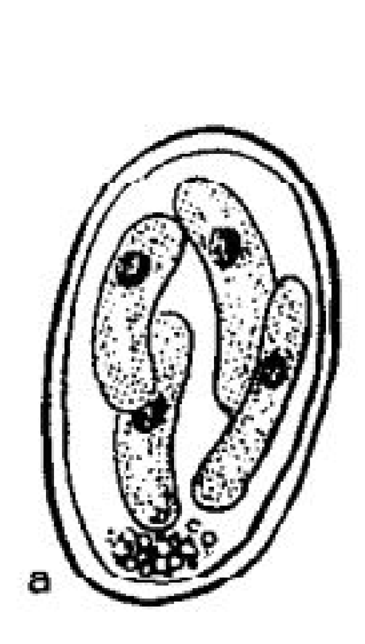
الشكل 30.4. كيسات الجياردية المعوية.

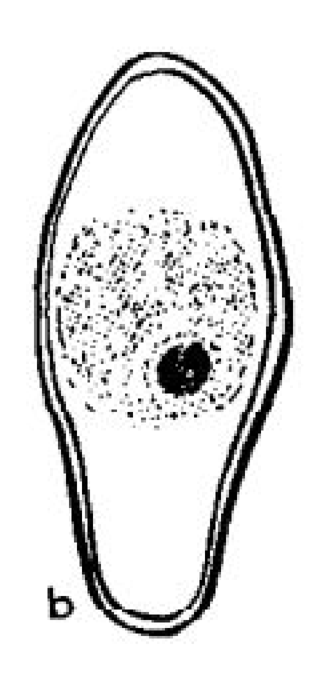


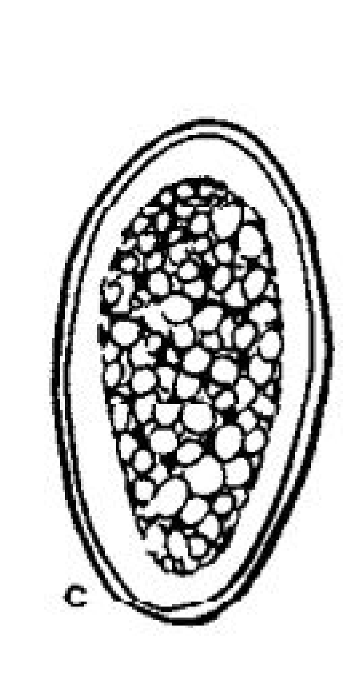
الشكل 31.4. كيسات شفوية السياط المنيلية.



الشكل 32.4. كيسة القربية القولونية.







الشكل 33.4. أنماط الأكريات:
a: يحتوي على 4 حيوانات بوغية، وأحياناً على حبيبات كبيرة قليلة متكتلة في أحد القطبين؛
b: يحتوي على خلية حبيبية مدورة كبيرة واحدة؛ c: يحتوي على حبيبات لامعة تملأ داخل الأكرية برمته.

الأكْرِيَّات (الشكل 33.4)

الأكريات هي أوالي يمكن أن تتطفل على الإنسان (دون أن تسبب أي آثار مرضية مهمة) أو قد توجد بشكل عابر في البراز لدى الأشخاص الذين تناولوا طعاماً مُعْدى بها (لحم السمك أو الأرنب، الخ...). وهي تبدو في البراز بشكل يماثل الكيسات (وتدعى البيوض المُتَكَيِّسَة **oocysts** أو كيسات الأبواغ **sporocysts**).

الحجم: 15–20 مكم بحسب الأنواع.

الشكل. بيضاوية متطاولة، وأحياناً نحيلة في أحد القطبين.

اللون: عديمة اللون وشفافة (أو صفراء شاحبة أحياناً).

القشرة: خط مضاعف متميز بوضوح كاسر قليلاً، وأحياناً يوجد نوع من الوِصاد في أحد القطبين.

المحتوى: ثلاثة أنماط (الشكل 33.4):

(آ) 4 حيوانات بوغية **sporozoites** (عصيات صغيرة كالموزة) تحتوي كل منها على نواة مدورة صغيرة، وأحياناً توجد حبيباتٌ كبيرة قليلة متكتلةٌ في أحد القطبين؛

(ب) خلية حبيبية مدورة كبيرة واحدة؛

(ج) حبيبات لامعة تملأ داخل الأكرية برُمَّته.

الفحص المجهري للكيسات

المحضر الرطب في المحلول الملحي

يمكن رؤية الكيسات ككريات شفافة لامعة تبرز بوضوح على خلفية رمادية، ويكون لكل منها قشرة مُحَدَّدة جيداً.

تُعَدَّل البؤرة للأعلى والأسفل باستعمال الشيئية العالية التكبير 40× ويُفَتَّش عن أشياء مدورة براقة بقطر يساوي تقريباً 1–3 كريات حمراء.

الأجسام الصِبْغانِيَّة

يجري التّفتيش أيضاً عن الأجسام الصبغانية (بُنى عصوية الشكل)، وتكون أكثر تميزاً في محضرات المحلول الملحي منها في محضرات المحلول اليودي. وهذه الأجسام متميزة بمظهرها وتوجد في كيسات الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج والمتحولة القولونية، وتكون الأجسام الصبغانية العصوية الشكل الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج ذات نهايات مدورة، أما أجسام المتحولة القولونية فتكون ذات نهايات حادة مستدقة. وترى هذه الأجسام الصبغانية بتواتر أقل في كيسات الأميبة (المتحولة) القولونية مما في كيسات الأميبة (المتحولة) الحالة للنسج.

النوى

لا ترى النوى بسهولة في محضرات المحلول الملحي ولكنها ترى بوضوح في محضرات المحلول اليودي، ومظهر النواة ملاحظة هامة في التمييز بين أنواع الأميبة. ولذلك يجب فحص محضر بالمحلول اليودي إذا شوهدت كيسات (أو أجسام تشبه الكيسة) في محضر المحلول الملحي.

القياس

القياس المضبوط للكيسات ضروري لاستعرافها الصحيح. تقاس أية كيسة مُكتَشَفة، ويستعمل إذا أمكن شبكة مُعَيَّرة من الخطوط الدقيقة في العدسة العينية (سُلَّم العينية) (الفقرة 1.1.3، ص 56).

المحضر الرطب في المحلول اليودي

تستعمل المحضرات اليودية لكشف كيسات الأميبات والسوطيات، ويمكن كشف الكيسات بالشيئية 10×. ويستعمل التكبير العالي لرؤية مميزات الكيسات وقياسها لضمان الاستعراف الصحيح.

يلون اليود هيولى الكيسات باللون الأصفر أو البني الفاتح وتكون النوى متلونة بالبني القاتم. وعندما تلون كيسات أنواع الأميبة (المتحولة) باليود فإنه يمكن رؤية ترتيب الكروماتين المحيطي وتوضع الجسيم النووي. (إذا كان الكروماتين المحيطي غائباً فالكيسة غير متعلقة بأحد أنواع المتحولة). تتلون هذه الأجسام الصبغانية المحيطية بالأصفر الفاتح وقد لا تكون واضحة كثيراً. تحتوي الكيسات الفتية أحياناً على الغليكوجين الذي يتلون بالبني القاتم بالمحلول اليودي؛ ويُمكّننا تلوين كيسات السوطيات باليود من رؤية اللُّييفات (الخيوط). يمكن أن تكشف كيسات عدة أنواع مختلفة في نفس نموذج البراز.

التركيز

إذا لزم الأمر تستعمل طريقة التثفيل بالفورمالدهيد-الأثير (الفقرة 2.5.4) لفحص عدد أكبر من الكيسات من أجل استعرافها الأكيد.

ملون اليوزين لتحري أتاريف و كيسات البراز

الفقرة 1.3.4، الصفحة117

طريقة تسيل-نلسن المُعدَّلة لتلوين البيوض المتكيسة لأنواع خفيّة الأبواغ Cryptosporidium

تسبب العدوى بأنواع خفية الأبواغ الحمى، المَغص البطني، والإسهال وفقد الوزن، مع كثرة اليوزينيات؛ ويمكن في الحالات الشديدة أن تظهر متلازمة سوء امتصاص.

يسبب داءُ خفيات الأبواغ إسهالاً محدوداً ذاتياً لدى الأطفال، وهو سبب معروف للإسهال المزمن لدى البالغين المصابين بانخفاض المناعة مثل مرضى متلازمة العوز المناعي المكتسب (الإيدز). وبذلك يجب الاشتباه بداء خفيات الأبواغ لدى المرضى المصابين بإسهال مزمن وفقد للوزن لا يمكن كشف سبب آخر لهما.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- رفرف شرائح
- أطباق بتري
- قطن
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- فورمالد هيد 0.37%
- الفورمالد هيد
- الكربول فوكسين لتلوين تسيل - نيلسن (الكاشف رقم 16).
- محلول الإيثانول الحمضي تلوين تسيل - نيلسن (الكاشف رقم 5).
- محلول الخُضْرَة الدُّهْنَجيَّة 1% (الكاشف رقم 31)
- الميثانول.



الشكل 34.4. البيوض المتكيسة لأنواع خفية الأبواغ.

الطريقة

1. يُسْتَحْلَب مقدار صغير من البراز في المحلول الملحي على شريحة نظيفة، ويفرش فوق منطقة 2سم×1سم تقريباً.
2. تترك اللطاخة لتجف قبل تثبيتها في الميثانول المطلق لمدة 5 دقائق. وإذا كان يُعرَف عن المريض أو يشتبه بأنه إيجابي HIV (فيروس العوز المناعي البشري) تُثَبَّت اللطاخة في بخار الفورمالين لمدة 15 دقيقة بوضع الشريحة في علبة بتري مع كرة من القطن مغموسة في الفورمالين.
3. تُغمر الشريحة بالكربول فوكسين لمدة 5 دقائق، ثم يُزال الملون بالغسل بالماء.
4. تُغمر الشريحة بالإيثانول الحمضي 1% لإزالة اللون حتى تصبح بلون وردي شاحب، ثم تغسل الشريحة بالماء.
5. تُلَوَّن الشريحة تلويناً مُبايناً بالخُضْرَة الدُّهْنَجيَّة 1% لمدة دقيقتين، ثم تُغْسَل بالماء وتُتْرَك لتجف تدريجياً.

تفحص الشريحة بالمجهر باستخدام الشيئية 40×.

إن البيوض المتكيسة لأنواع خفية الأبواغ الملونة بهذه الطريقة يمكن أن تبدي أشكالاً من التفاعلات اللونية تتراوح من الوردي الشاحب إلى الأحمر القاتم. تقيس البيوض المتكيسة 4–6 مكم؛ ويكون توضع الحيوان البوغي ضمن البيضة المتكيسة بشكل حافة خارجية من المادة القاتمة التلون مع مركز شاحب (الشكل 34.4)، وهذا يميز البيوض المتكيسة عن بعض الخمائر التي يمكن أن تتلون بالأحمر ولكنها ذات مظهر أملس متجانس.

ملاحظة: تعود أنواع خفية الأبواغ إلى مجموعة من الطفيليات تدعى الأُكْرِيَّات (ص 122)، وهناك طفيليات أخرى لهذه المجموعة هي :

– متماثلة البوائغ البديعة. – أنواع المتصورة. – المقوسة المنسلية.

إن البيوض المتكيسة لأنواع خفية الأبواغ مقاومة كثيراً للعوامل المُطَهِّرَة.

الأشكال التي ينبغي عدم الخلط بينها وبين الكيسات

الفُطْرِيَّات (الشكل 35.4)

الحجم : 5–8 مكم.

الشكل: بيضاوية، وكثيراً ماتكون ذات براعم.

اللون: (بعد التلوين بالمحلول اليودي) أحمر بني.

المحتوى: في الغالب كومة منزاحة عن المركز مؤلفة من 3–6 حبيبات صغيرة.

تكون بعض أشكال الفُطْرِيَّات (الأبواغ المفصلية) مستطيلة الشكل ذات هيولى بيضاوية رائقة كثيراً في الداخل.

المُتَبَرْعِمَة الكيسية البشرية blastocystis hominis (خميرة yeast) (الشكل 36.4)

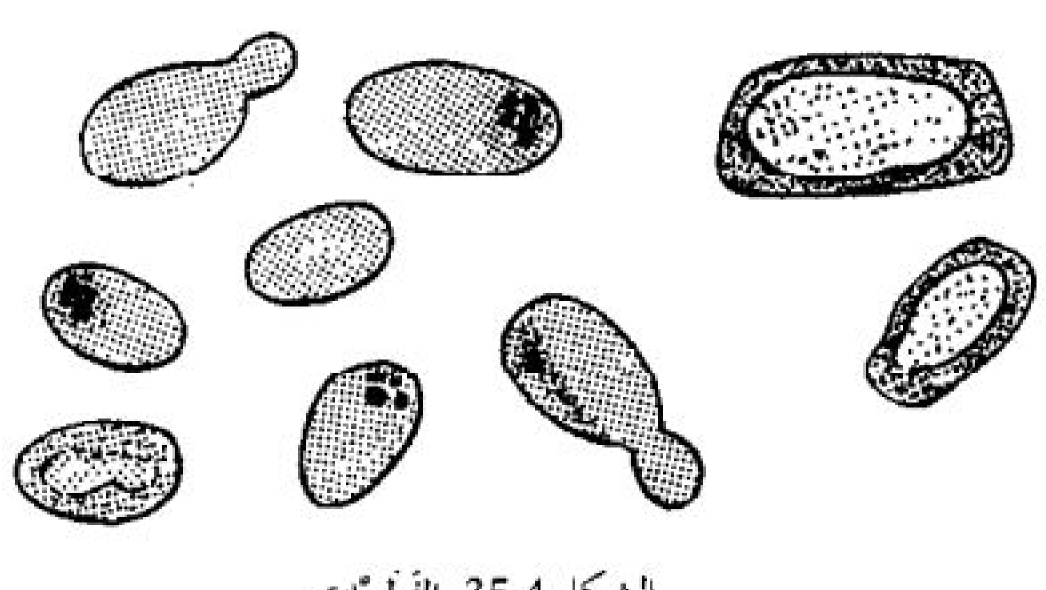
الحجم: 5–20 مكم (الوسطي 10 مكم).

الشكل: بيضاوية أو مدورة، وأحياناً ذات حواف غير منتظمة الزوايا.

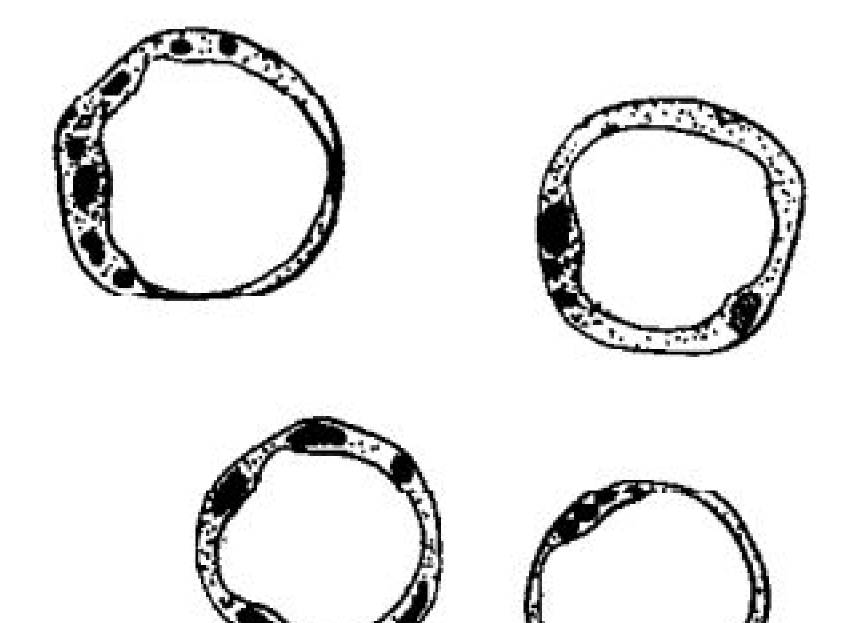
اللـون: لامعة جداً عندما تكون غير ملونـة، ولا تتلون الفجوة بالمحلول اليودي ولكن المحيط يتلون باللون الأصفر الشاحب.

المحتوى: فجوة واحدة كبيرة تشـغل معظم الخلية، وتؤلف الهيولى المنضغطة بها حلقة حبيبية حول الفجوة.

يطلب بعض الأطباء تسـجيل وجود المتبرعمة الكيسـية البشرية ولا سيما في براز الأطفال.



الشكل 35.4. الفطريّات.



الشكل 36.4. المتبرعمة الكيسية البشرية.

الكريات البيض (الشكل 37.4)

الحجم: 10–20 مكم.

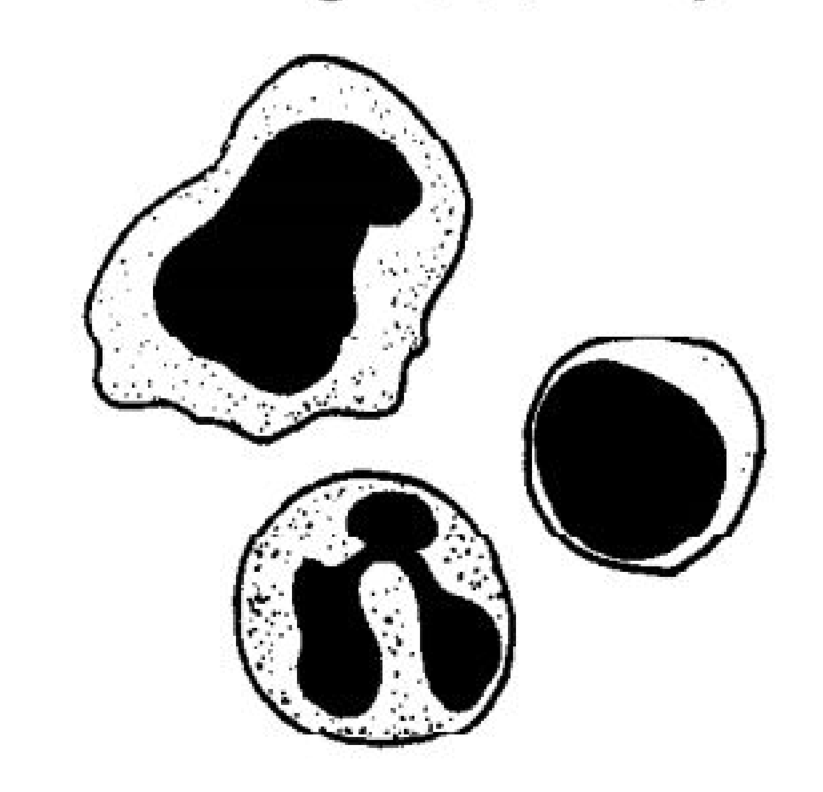
الشكل: مدورة أو متطاولة قليلاً محيطها غير منتظم.

النـواة: غـير واضـحة، وأحياناً تكـون ذات "جسـيم نووي كاذب" بشـكل النجمة.

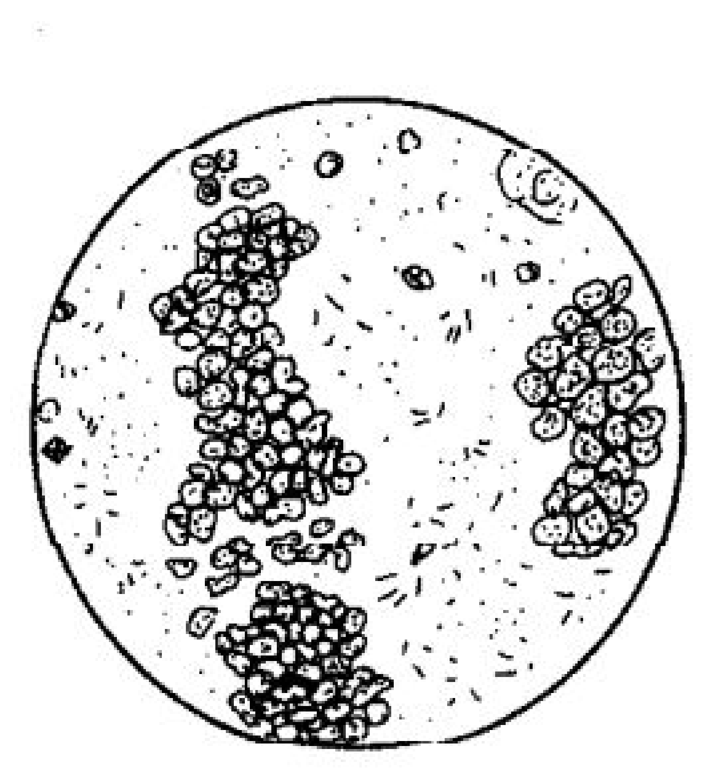
المحتوى: هيولى لامعة رائقة حبيبية فيها فجوات صغيرة جداً.

القيح (الشكل 38.4)

يظهر القيح للعين المجردة بشـكل نثرات أو خيوط رمادية ظليلة (ليسـت شفافة كالمخـاط)، أما بالمجهر فإنها تبدو بشـكل كتلة من الكريات البيض المُتنكسـة. (ينبغي أن يسجل وجود القيح).



الشكل 37.4. الكريات البيض.



الشكل 38.4. القيح.

4.4 الديدان المعوية

تسبب عدوى الديدان مجموعةً متنوعة من الأعراض السريرية تتضمن المَغص البطني، والحمى، وفقد الوزن، والقـيء، والتهـاب الزائدة، وفقد الدم، وفقر الـدم وكثرة اليوزينيات. وهناك ثـلاث مجموعات من الديدان المهمة طبياً:

– المَمْسودات nematodes (الديدان المدورة).
– الشُّراطِيّات cestodes (الشريطيات tapeworms).
– المُثقوبات trematodes (الديدان المثقوبة flukes).

تُشَـخَّص عداوى الديدان عادةً بكشـف البيوض واليرقات، وبشـكل أقل تواتراً يمكن رؤية الديدان الكهلة -مثل الأسكاريس (الصفر الخراطيني) والسرمية الدويدية – كما تُستعمل القطع والأسَلات proglottids لتشـخيص بعض الشريطيات؛ وعلى كل حال تسـتعمل البيوض للاسـتعراف (تعيين الهوية) من أجل معظم عداوى الديدان.

1.4.4 استعراف البيوض

إن المميزات المستعملة لاستعراف بيوض أنواع الديدان هي كما يلي:

الحجم

يقاس الطول والعرض ويكونان عموماً ضمن مجال نوعي لكل بيضة.

الشكل

لكل نوع شكله الخاص به.

دور النماء حين مرورها في البراز

تتألـف بيوض بعض الأنواع من خلية مفردة، ويتكون بعضـها من خلايا عديـدة، كما تكون بعض البيوض مُضغِيَّة (أي تحتوي على يرقة) عادةً.

أحياناً -إذا كانت نماذج البراز بعمر يوم إلى يومين- يمكن أن تتطور البيوض إلى أدوار أكثر تقدماً. تكون بيوض الأسكاريس (الصفر الخراطيني) عادةً ذات خلية واحدة فقط حين مرورها في البراز، بيد أنه يمكن أن تنقسم الخلية المفردة ويمكن أن تُرى -في النماذج بعمر أكثر من 12 ساعة- بيوضٌ ذات 2 أو 4 خلايا.

إن بيوض الدودة الشصية الموجودة في النماذج التي لها عدة ساعات من العمر يمكن أن تحتوي على 16 أو 32 خلية أو أكثر، ويمكن أن تكون البيضة بعد 12–24 ساعة مضغيةً، وقد تفقس اليرقات لاحقاً.

لذلـك عند ملاحظة دور نماء بيوض الديدان يجب التأكد من أن نموذج البراز مارٌّ بشـكل طازج، وإذا كان عمره عدة ساعات أو يوم فيجب توقع رؤية تبدلات في دور نماء بعض الأنواع؛ وهكذا في الحالة المثالية يجب أن تُقبَل العينات الطازجة فقط للتشخيص.

ثخانة قشرة البيضة

تكون بيوض بعض الأنواع كالأسـكاريس (كالصـفر) الخراطيني ذات قشرة ثخينة، في حين يكون لبعضـها الآخر كالدودة الشصية قشرة رقيقة.

اللون

تكون بعض البيوض عديمة اللون (مثل الدودة الشصـية، السرمية الدويدية)، ويكون بعضـها الآخر أصفر أو بني اللون مثل الأسكاريس («الصفر الخراطيني»)، المسلكة الشعرية الذيل).

مميزات أخرى

إن وجود مميزات كالأوصِـدَة (مفردها وِصـاد) (أغطية)، أو الأشـواك، أو العكد (البرزات)، أو المحتويات (الحشـوة)، أو الشُّصـوص (الكَلاليب)، أو الأغلفة الخارجية المُحَلَّمَة يمكن أيضـاً أن يسـاعد في اسـتعراف البيوض.

إذا كُشِـفت بيضة أو شـيء يبدو مشابهاً لبيضة فينبغي ملاحظة المميزات المذكورة أعلاه وتدقيقها بانتباه لكي يتم الوصول إلى استعراف نوعي. تُرى أحياناً بيوضٌ غيرُ نموذجيةٍ أو مُشَوَّهةٌ، وفي هذه الحالات من الضروري التفتيش عن أشكال أكثر نموذجيةً للوصول إلى تشخيص موثوق به. ويجب تذكر أنه يمكن أن يوجد أكثر من نوع واحد من الديدان في مريض ما.

قياس البيوض

- 1 مكرومتر (1مكم) = 0.001 مم.

والحجم الذي نعطيه في هذا الكتاب بالمكرومترات هو حجم القُطْر الطويل من البيضة.

ويمكن تقدير الحجم بمقارنته مع حجم الكرية الحمراء التي تقيس 7.5–8.0 مكم.

- يمكن تقدير الحجم بالنسبة إلى الساحة المجهرية:
  - إذا استعملت الشيئية 10× تشغل بيضة البلهارسية المنسونية حوالى عُشْر الساحة.
  - وإذا استعملت الشيئية 40× تشغل بيضة البلهارسية المنسونية حوالي ثلث الساحة.
- ويمكن أن تقاس البيضة بوضع سلم قياس صِغْري (مكرومتري) في عينية المجهر، حيث تكون تقسيمة واحدة للسلم باستعمال الشيئية 10× والعينية 10× = 1 مكم.
- وثمة طريقة أخرى للقياس قوامها مقارنة البيضة مع بيضة نوع آخر يكثر وجوده في المنطقة المحلية ويكون حجمه تحت المجهر معروفاً (مثلاً بيضة الدودة الشصية، الدودة المدورة كالأسكاريس، الخ....).

كيف يتم التعرف على البيوض

الطريقة الموصى بها هي:

- تعيين الهوية المحتملة للبيضة من مظهرها العام.
- إجراء دراسة منهجية لكل مميزات البيضة للتأكد من هويتها؛ وبهدف اكتساب الخبرة (تحت إشراف وتوجيه مدرب إن أمكن):
  - تَدَرّس مختلف البيوض الموجودة في المنطقة المحلية؛
  - تُسْتَعْرَف كافة مميزات كل بيضة واحدةً فواحدةً كما وصفت في هذا الكتاب.

يبين الجدول 5.4 قائمة بأنواع الديدان التي تُكْتَشَف بيوضها في البراز.

ذُكِرَت المصطلحاتُ المستعملة لاستعراف بيوض الديدان ومفتاحٌ لاستعرافها في الشكلين 39.4 و 40.4 على التوالي، كما يبدي الشكل 41.4 القَدوة النسبية لبيوض الديدان.

الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الملقوة العفجية) Ancyostoma duodenale

الحجم: 50–80 مكم.

الشكل: بيضوي مع قطبين مدورين مبسطين قليلاً (الغالب أن يكون أحد القطبين أكثر تسطحاً من الآخر).

القشرة: رقيقة جداً، وتبدو كخط أسود.

المحتوى: يختلف تبعاً لدرجة النضج.

اللون: تكون الخلايا رمادية شاحبة (ويلونها المحلول اليودي بالبني القاتم).

النمط (أ) (في البراز الطازج) (الشكل 42.4)

4 أو 8 أو 16 خلية حبيبية رمادية رائقة ولكنها غير لامعة للضوء (قُسَيْمات أُرومِيّة).

النمط (ب) (في براز عمره عدة ساعات) (الشكل 43.4)

كتلة متجانسة من كثير من الخلايا الحبيبية الرمادية الصغيرة.

النمط(ج) (في براز عمره 12–48 ساعة) (الشكل 44.4)

تكون البيضة برمتها مملوءة بيرقة صغيرة (الدودة المقبلة) ملتفة على نفسها ويقال عن هذه البيضة إنها "ذات مضغة أو جنين".

الأسكاريس (الصَّفَر الخراطيني) Ascaris Lumbricoides

هنالك أربعة أنماط من بيوض الأسكاريس (الصفر الخراطيني):

- أ: بيضة مُخَصَّبَة ذات قشرة مزدوجة.
- ب: بيضة غير مخصبة ذات قشرة مزدوجة.

جدول 5.4. أنواع الديدان التي تُكْشَف بيوضها في البراز

الاسم العلمي	التوزع الجغرافي
الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الملقوة العفجية)	كل العالم
الأسكاريس (الصفر الخراطيني)	كل العالم
مفرع الخصية الصيني	جنوب-شرق آسيا
متفرعة المعى المتغصنة، متفرعة المعى الهوسبية.	كل العالم
العوساء العريضة	كل العالم
ذات المنفذين الكلبية	كل العالم
السرمية الدويدية	كل العالم
المتورقة العملاقة	كل العالم
المتورقة الكبدية	كل العالم
المتوارقة البوسكية	شرق وجنوب آسيا
الخيفانة الخيفاء	جنوب-شرق آسيا، شرق البحر المتوسط
المدرجنة الضميلة	كل العالم
المحرشفة القزمة	كل العالم
خلفية المناسل اليوكوغاوية	شرق وجنوب آسيا، وسط وشرق أوروبا
الفتاكة الأمريكية	كل العالم
متأخر الخصية الهري	شرق وجنوب آسيا، وسط وشرق أوروبا
جانبية المناسل الوسترمانيةا	إفريقيا الوسطى، شرق وجنوب آسيا، أمريكا الجنوبية
البلهارسية الدمويةب	إفريقيا، شرق البحر المتوسط
البلهارسية المقحمة	إفريقيا
البلهارسية اليابانية	شرق وجنوب آسيا
البلهارسية المنسونية	إفريقيا (جنوب الصحراء)، شرق البحر المتوسط، والمناطق المدارية لأمريكا الجنوبية، الكاريبي
البلهارسية الميكونغية	جنوب-شرق آسيا
الأسطوانية البرازية ج	كل العالم
الشريطة العزلاء	كل العالم
الشريطية الوحيدة	كل العالم
الأسطونية الشعرية (أنواع مختلفة)	آسيا
المسلكة الشعرية الذيل	كل العالم

a– أكثر ما توجد في البلغم أو القشع.

b– أكثر ما توجد في البول.

c– أكثر ما توجد بشكل يرقات في البراز.

- ج: بيضة خصبة مقشرة جزئياً (أقل مصادفةً).
- د: بيضة غير مخصبة ومقشرة جزئياً (نادرة جداً).

النمط (أ): البيضة المخصبة ذات القشرة المزدوجة (الشكل 45.4)

الحجم: 45 – 70 مكم.

الشكل: بيضاوية وأحياناً مدورة.

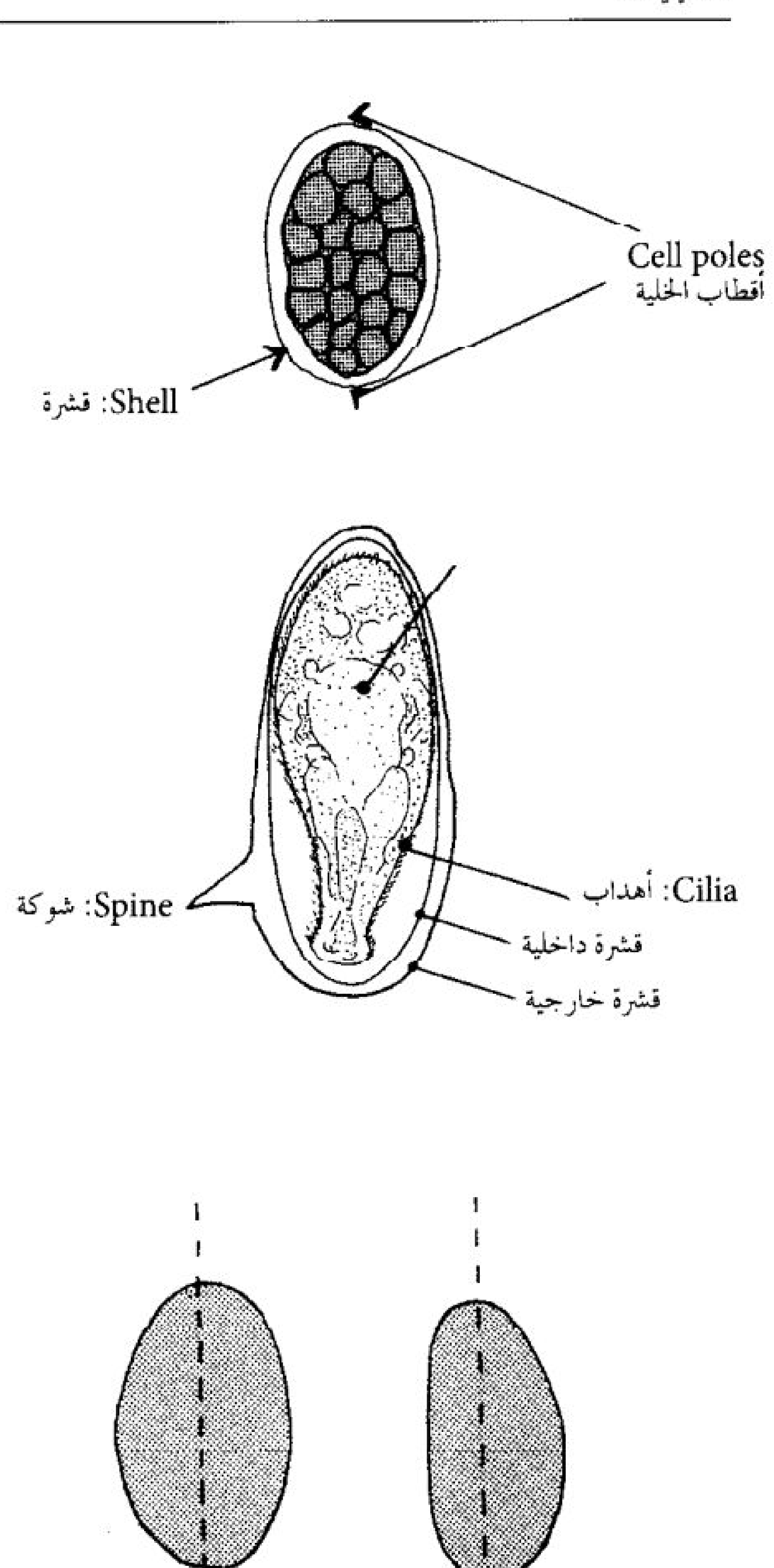
القشرة: القشرتان متميزتان :

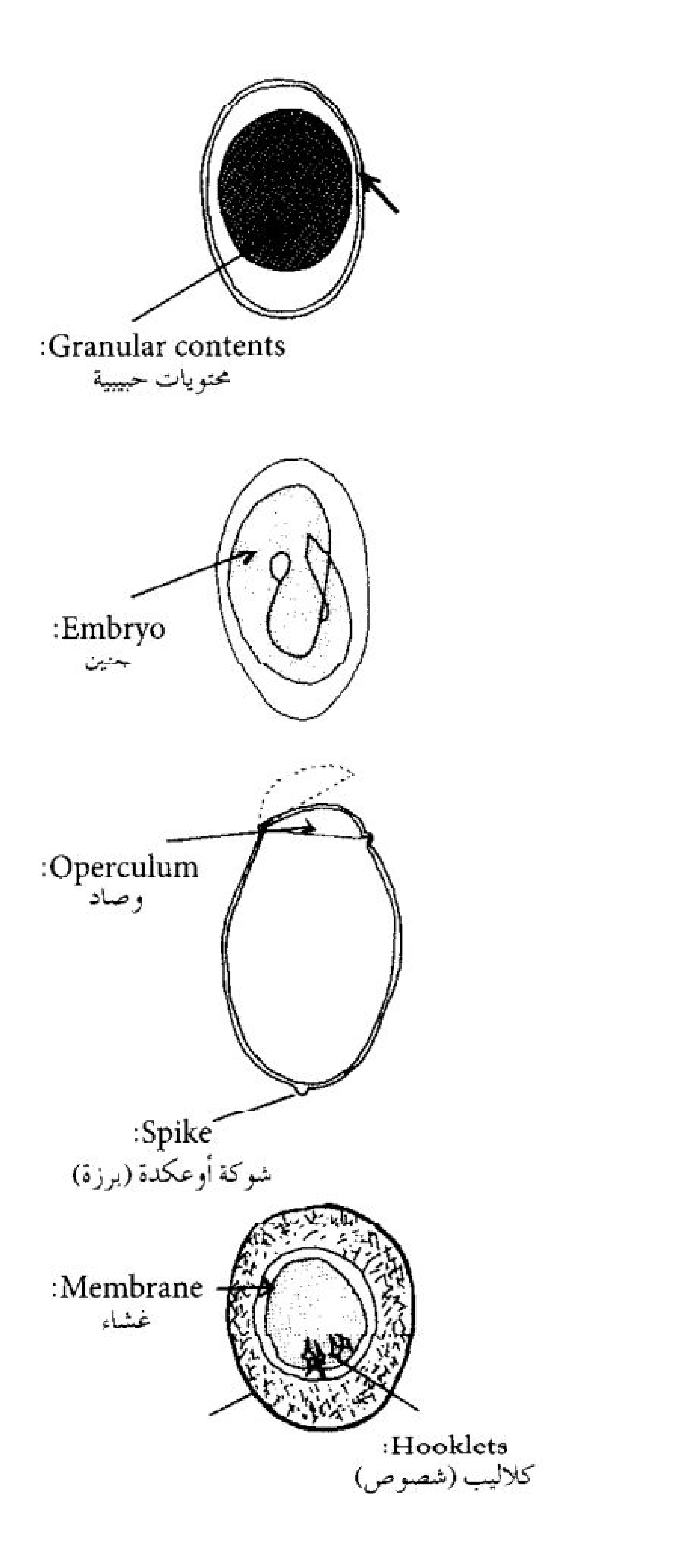
– القشرة الخارجية خشنة بنية مغطاة بكُتَيْلات صغيرة (مُحَلَّمة).

– القشرة الداخلية ملساء ثخينة عديمة اللون.

المحتوى: كتلة مركزية حبيبية مدورة واحدة.

اللون: القشرة الخارجية بنية؛ المحتويات عديمة اللون أو صفراء شاحبة.





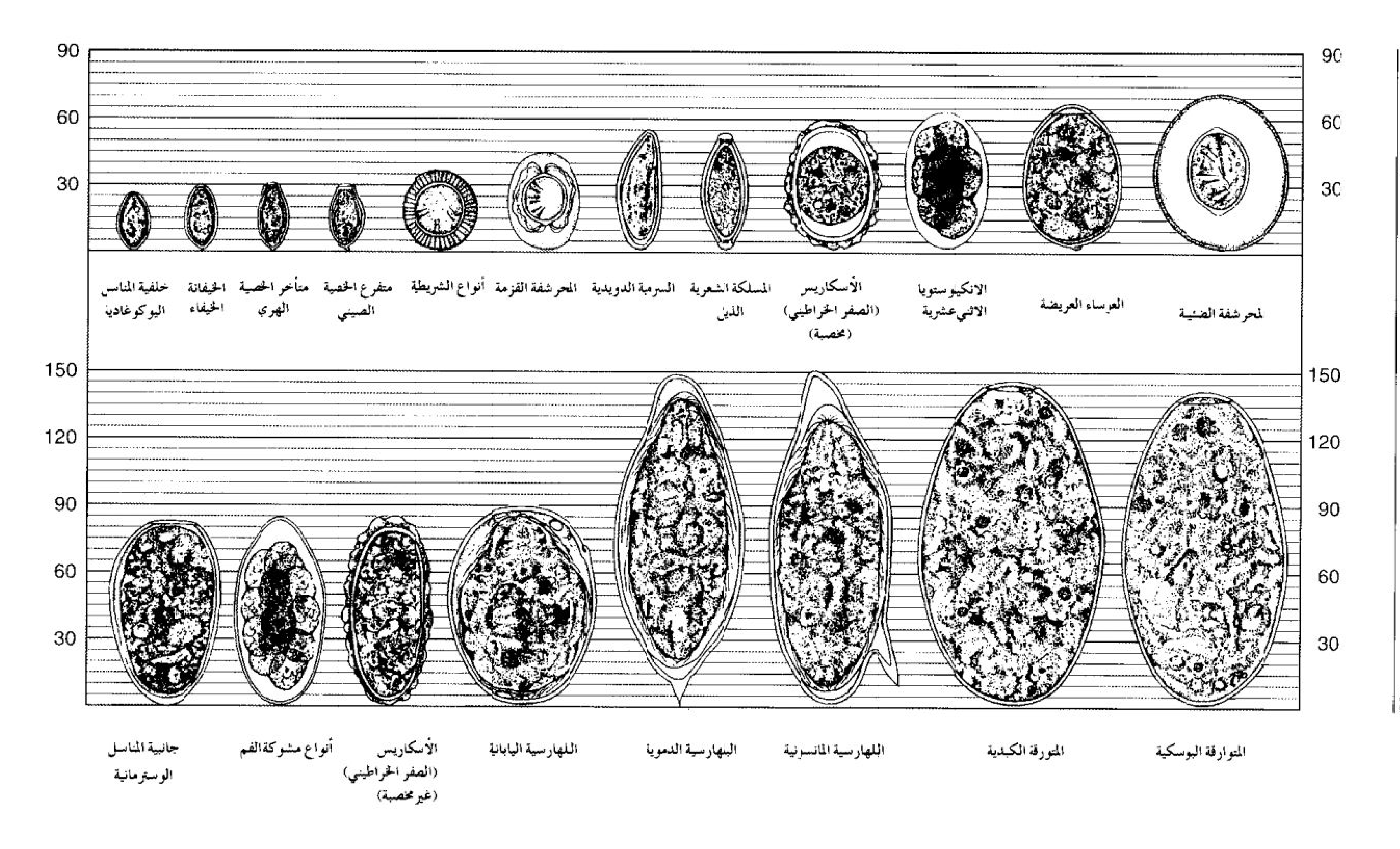
الشكل 39.4. المصطلحات المستعملة لاستعراف بيوض الديدان.

البيوض

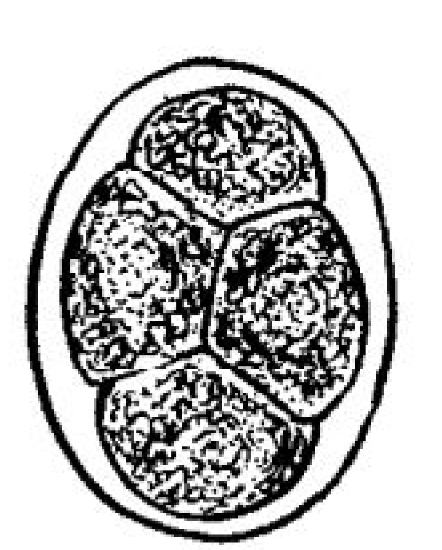
- غير محاطة بمحفظة ـــ محاطة بمحفظة ؟ ـــ محاطة بمحفظة (٣٠-٤٠ مكم x ٢٥-٥٠ مكم) ـــ ذات المنفذين الكلبية
- مع أو بدون محتويات (حشوة) ـــ بدون محتويات
  - مع أو بدون وصاد ـــ بدون وصاد ؟ ـــ مع أو بدون شوكة؟
  - مع وصاد
  - طول البيضة؟
    - طول <٣٥ مكم ـــ مع أو بدون تمنكب ـــ بدون تمنكب ـــ متطاولة ـــ متأخر الخصية الهري (٢٥-٣٥ مكم x ٨-١٢ مكم)
      - قشرة رقيقة ـــ خلفية المناسل اليوكوغاوية (٢٥-٣٠ مكم x ١٥-٢٠ مكم)
      - مع تمنكب ـــ واضح (٢٥-٤٥ مكم x ١٠-٢٢ مكم) ـــ متفرع الخصية الصيني
      - أقل وضوحاً، وصاد واسع (٢٥-٣٠ مكم x ١٥-١٧ مكم) ـــ الخيفانة الخيفاء (برزة صغيرة في النهاية الخلفية)
    - طول ٣٥-١٢٠ مكم ـــ بيضوية، قشرة ثخينة ، لون أصفر ذهبي، بدون جنين (٥٥-٨٠ مكم x ٤٠-٥٠ مكم) ـــ العوساء العريضة
      - بيضوية، قشرة ثخينة، لون بني ذهبي، بدون جنين ـــ الوصاد مسطح ـــ نعم ـــ جانبية المناسل الوسترمانية (٦٥-١٢٠ مكم x ٤٠-٥٠
      - لا ـــ أنواع مشوكة الفم (٨٠-١٢٠ مكم x ٥٥-٩٠ مكم)
    - طول >١٢٠ مكم بيضوية، قشرة ثخينة، صفراء بنية ـــ المتورقة الكبدية (١٣٠-١٤٥ مكم x ٧٠-٩٠ مكم)
      - المتوارقة البوسكية (١٢٥-١٤٠ مكم x ٧٠-٩٠ مكم)
- مع محتويات (حشوة) ـــ محتويات بارزة بوضوح (٥٠-٦٥ مكم x ٢٠-٣٠ مكم) ـــ المسلكة الشعرية الذيل
  - محتويات غير بارزة بوضوح ـــ وسطها نحيل قليلا ـــ لا ـــ الوعائية الكبدية
    - نعم ـــ الوعائية الفلبينية

الشكل 4 ,40 مفتاح استعراف بيوض الديدان

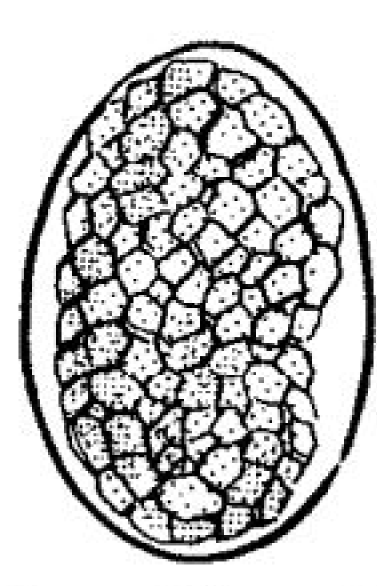
- طول الدودة؟
  - مع شوكة
    - طول <١١٠ مكم
      - شوكة صغيرة جانبية غالباً غير واضحة (٧٠-١٠٠ مكم x ٤٥-٨٠ مكم) — البلهارسية اليابانية
    - طول >١١٠ مكم
      - شوكة جانبية كبيرة شفافة قشرة (١١٠-١٨٠ مكم x ٤٥-٧٥ مكم) — البلهارسية المانسونية
      - شوكة انتهائية
        - نهاية أمامية مدورة، غالباً في البول أو خزعة المثانة — البلهارسية الدموية
        - نهاية أمامية مدببة، شوكة طويلة مدببة (١٤٠-١٨٠ مكم x ٥٠-٨٥ مكم) — البلهارسية المقحمة (فى البراز)
  - بدون شوكة
    - قشرة رقيقة أم ثخينة؟
      - قشرة رقيقة ملساء
        - مع أو بدون بلاستومير؟
          - بدون بلاستومير (يرقة جزئية التطور) (٥٠-٨٠ x ٣٥-٥٠ مكم) — الأسطوانية البرازية (تحوي يرقات)
          - مع بلاستومير، بيضوية أم اهليلجية متطاولة
            - بيضوية لها ٢-٨ بلاستومير (٥٠-٨٠ x ٣٥-٤٠ مكم) — الفتاكة الأمريكية أو الأنكيلوستوما الإثنا عشرية
            - اهليلجية متطاولة (متناظرة) قشرة ذات غشاء وحيد (٧٥-١١٥ مكم x ٤٠-٥٠ مكم) — الاسطوانية الشعرية
      - قشرة ثخينة، ملساء أم خشنة ؟
        - قشرة ثخينة خشنة، البيضة تحوي خلية غير منقسمة مع حبيبات خشنة (٤٥-٧٠ x ٣٥-٤٥ مكم) — الأسكاريس (الصفر الخراطيني)
        - قشرة ثخينة ملساء، متناظرة أم لا؟
          - غير متناظرة
            - لون البيضة؟
              - بيضة بنية عاتمة (٣٥-٥٠ مكم x ٢٢-٣٠ مكم) — متفرعة المعي المتغصنة
              - بيضة غير ملونة القشرة تحوي ٤ طبقات (٥٠-٦٠ مكم x ٢٠-٣٢ مكم) — السرمية الدويدية
          - متناظرة
            - مع أو بدون محمل جنين
              - مع محمل جنين، صفراء شاحبة إلى بنية (قطرها ٣٠-٨٠ مكم) — الشريطية العزلاء أو الشريطية المسلحة (تفرق بفحص الأسلة)
              - بدون محمل جنين
                - مع أو بدون ليفات قطبية؟
                  - مع ليفات قطبية (٤٠-٦٠ مكم x ٣٠-٥٠ مكم) — المحرشفة القزمة
                  - بدون ليفات قطبية (٧٠-٩٠ مكم x ٦٠-٨٠ مكم) — المحرشفة الضئيلة



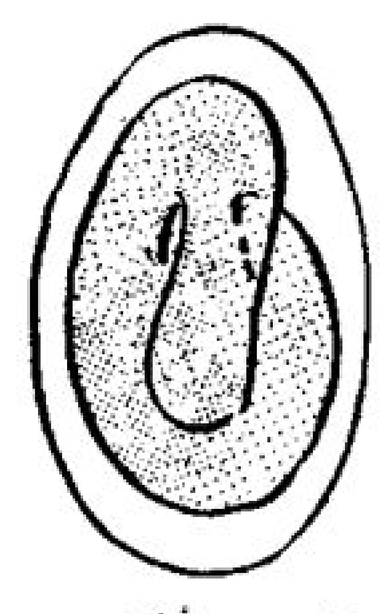
الشكل 41.4. الحجوم النسبية لبيوض الديدان.
أُهملت البلهارسية المقحمة والبلهارسية الميكونغية.



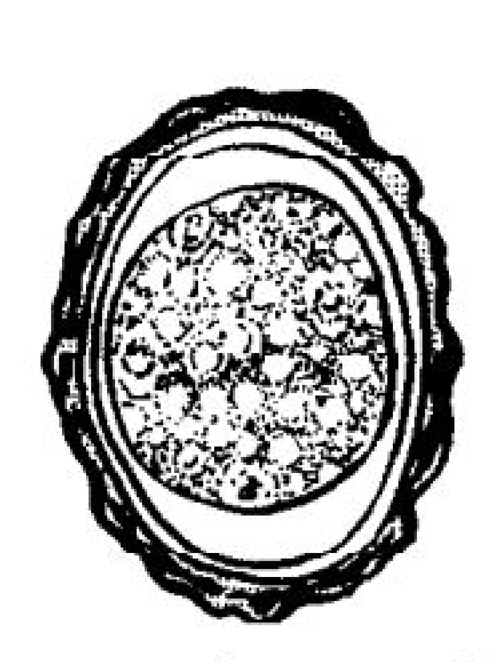
الشكل 42.4. بيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية في البراز الطازج.



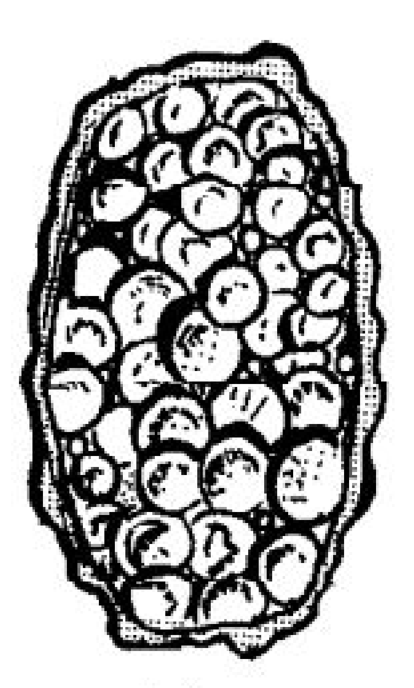
الشكل 43.4. بيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية في براز بعد عدة ساعات.



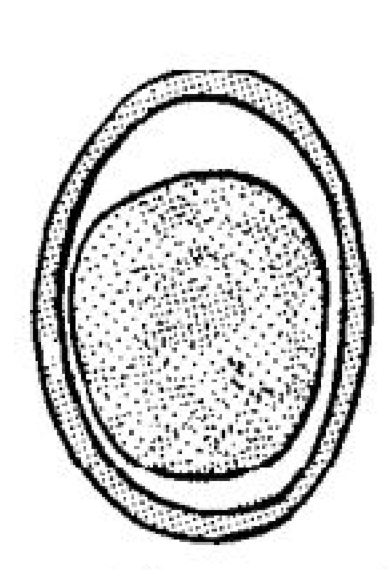
الشكل 44.4. بيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية في براز بعد 12–48 ساعة.



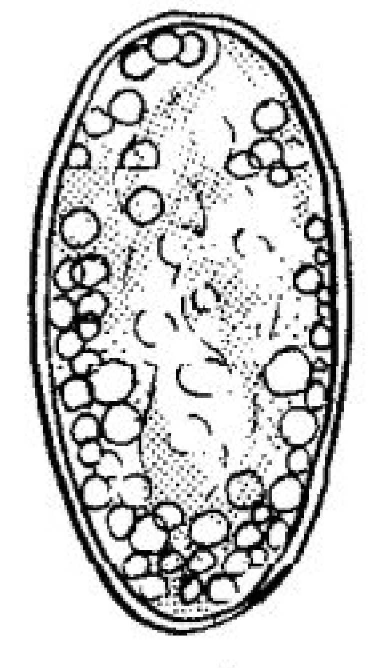
الشكل 45.4. بيضة الأسكاريس (الصفر الخراطيني) المخصبة ذات القشرة المزدوجة.



الشكل 46.4. بيضة الأسكاريس (الصفر الخراطيني) غير المخصبة ذات القشرة المزدوجة.



الشكل 47.4. بيضة الأسكاريس (الصفر الخراطيني) الخراطيني المخصبة المقشرة جزئياً.



الشكل 48.4. بيضة الأسكاريس (الصفر الخراطيني) غير المخصبة المقشرة جزئياً.

النمط (ب): البيضة غير المخصبة ذات القشرة المزدوجة (الشكل 46.4)

الحجم. حوالي 45–90 مكم (أكبر من النمط أ) .

الشكل: أكثر تطاولاً (إهليلجية أو غير منتظمة).

القشرة: القشران غير متميزين:

– القشرة الخارجية بنية ومنتفخة وذات كتلة مُفَرَّضَة.

– القشرة الداخلية رقيقة (قد يرى خط أو خطان).

المحتوى: البيضة مليئة بحبيبات كبيرة مدورة لامعة جداً للضوء (لامعة).

النمط (ج): البيضة المخصبة المقشرة جزئياً (الشكل 47.4)

تماثل النمط (أ) ولكنها دون قشر خارجي.

القشرة: مفردة ملساء ثخينة وعديمة اللون (أو أصفر شاحب جداً).

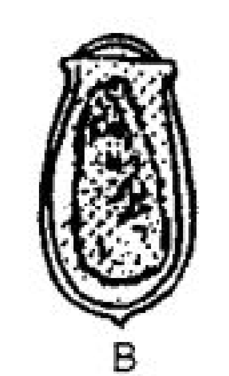
المحتوى: كتلة مركزية حبيبية مفردة مدورة عديمة اللون.

النمط (د): البيضة غير المخصبة المقشرة جزئياً (الشكل 48.4)

القشر: قشر مفرد أملس رقيق عديم اللون (خط مزدوج).

المحتوى: حبيبات لامعة للضوء عديمة اللون مدورة كبيرة.

تحذير: يجب أن لا يلتبس النمط (د) مع بيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو أنواع المتورقة أو المتوارقة البوسكية.

الشكل 49.4. بيوض متفرع الخصية الصيني: B: الشوكة أو العكدة (البرزة).

مُتَفَرِّع الخصية الصيني Clonorcis sinesis (الشكل 49.4)

الحجم: 25–45 مكم.

الشكل: متميز.

القشرة: ناعمة ملساء ولكنها ثخينة تماماً (خط مزدوج).

الوِصاد: مرئي بسهولة في النهاية الضيقة من البيضة، وهو مُتَدخّل في حافة ثخينة من القشرة.

الشوكة أو العكدة (البَرْزَة): توجد شوكة أوعكدة صغيرة في النهاية الواسعة من البيضة.

المحتوى: جنين مهدب جيد التَّعَضّي.

اللون: قشرة بنية مصفرة، والمحتويات صفراء شاحبة.

أنواع متفرعة المعى Dicrocoelium

الحجم: 35–50 مكم.

الشكل: بيضاوي وعادة غير متناظر.

القشرة: ثخينة ملساء بلون أصفر أو برتقالي أو بني فاتح.

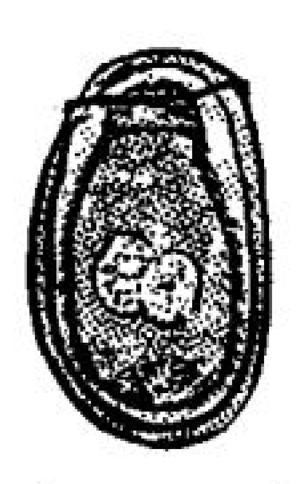
الوصاد: مرئي بسهولة.

النمط (أ): البيوض العابرة (الشكل الأكثر مصادفة؛ الشكل 50.4) [1]

القشرة: لونها أصفر أو برتقالي أو بني فاتح.

المحتوى: كتلة بيضاوية غير متميزة صفراء قاتمة، وفيها غالباً 1–4 كريات لامعة.

الشكل 50.4. البيوض العابرة لأنواع متفرعة المعى: O: الوصاد.



الشكل 51.4. بيضة أنواع متفرعة المعى من مريض مُعْدى.

النمط (ب): البيوض من مريض مُعْدى (نادرة جداً؛ الشكل 51.4)

القشرة: متناسقة بنية قاتمة.

المحتوى: جنين مهدب.

العوساء العريضة Diphyllobothrium latum (الشكل 52.4)

الحجم: 55–80 مكم.

الشكل: بيضاوية منتظمة.

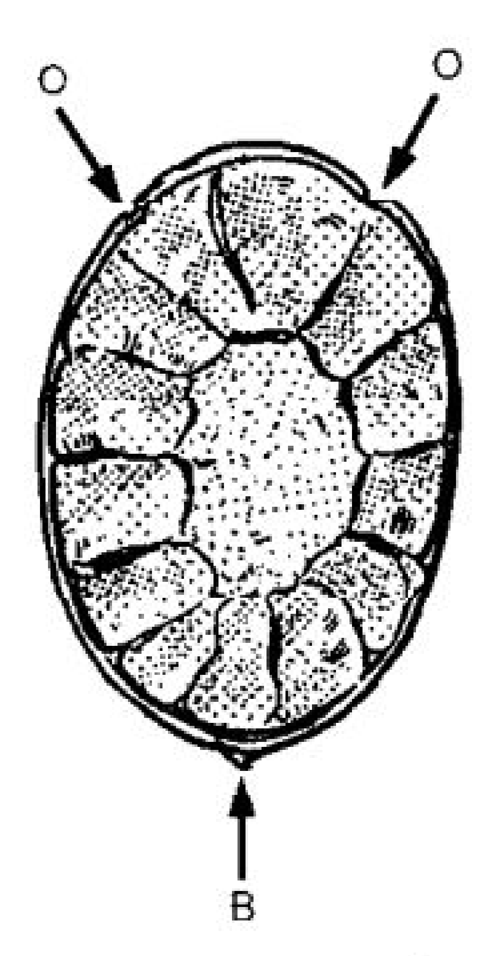
القشرة: ملساء رقيقة.

الوصاد: يصعب رؤيته عندما لا يكون بارزاً.

الشوكة أو العكدة (البرزة): صغيرة جداً في النهاية المقابلة للوصاد.

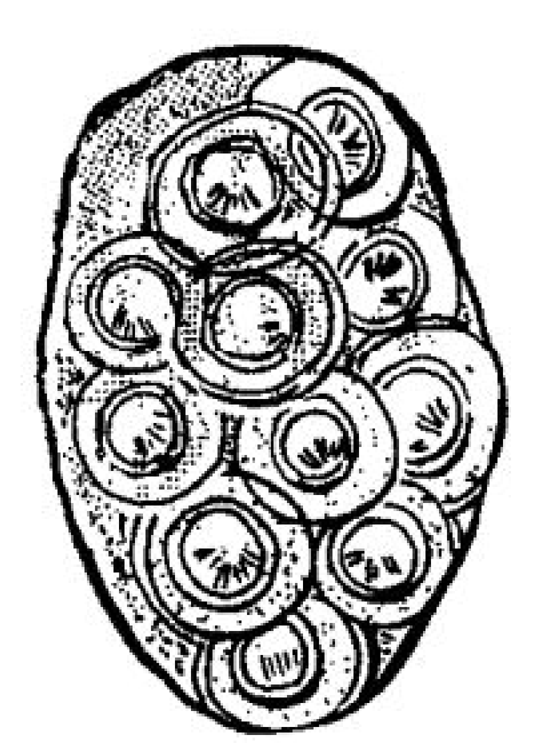
المحتوى: كتله من الخلايا الصغيرة التي تَحُفُّ بخليه مركزيه كبيرة.

اللون: أصفر شاحب.



الشكل 52.4. بيضة العوساء العريضة: B: الشوكة أو العكدة (البرزة)؛ O: الوصاد.

1 – تشاهد عندما يأكل المريض كبد الخروف أو البقر المصاب بالدودة المثقوبة. لايمكن هضم البيوض، ورغم ظهورها في البراز فإن المريض لم يصب بالعدوى. يعاد الفحص بعد ثمانية أيام، ويجب أن يطلب من المريض عدم أكل الكبد أومنتجاته خلال هذه الفترة


الشكل 53.4. بيوض ذات المنفذين الكلبية.

ذات المَنفَذَيْن الكلبية Dipylidium caninum (الشكل 53.4)

توجد بيوض ذات المنفذين الكلبية في أكوام من 6–20 بيضة ضمن غشاء ناعم.

الحجم: 30–40 مكم (150–300 مكم للكومة).

الشكل: مدور.

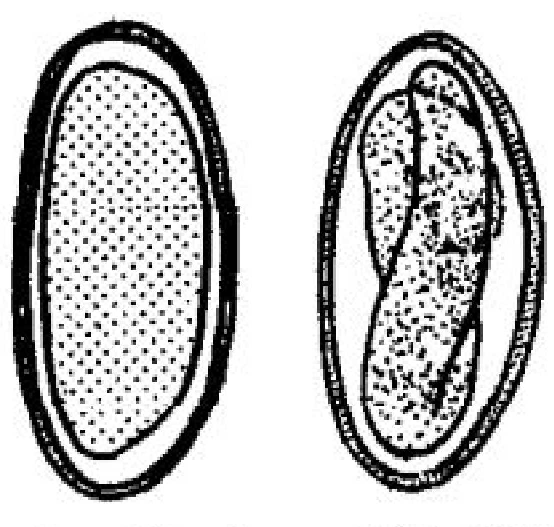
القشرة: ثخينة محببة قليلاً وغير مخططة.

المحتوى: كتلة حبيبية متناسقة مفردة ذات ثلاثة أزواج من شُصُوص لامعة مرتبة بشكل المروحة.

اللون: أصفر أو رمادي شاحب.



السُرْمِيّة الدُوَيْدِيّة Enterobius Vermicularis (الشكل 54.4)


الشكل 54.4. بيوض السرمية الدويدية.

الحجم: 50–60 مكم.

الشكل: بيضاوي ولكنه غير متناظر تماماً (مبسط في أحد الجانبين ومدور في الجانب الآخر).

القشرة: ملساء رقيقة، ولكن ترى كخط مضاعف.

المحتوى. إما (أ) كتلة حبيبية صغيرة بشكل بيضاوي غير منتظم، أو (ب) جنين الدوده أي يرقة صغيرة ملتفة على نفسها.

اللون: عديمة اللون.

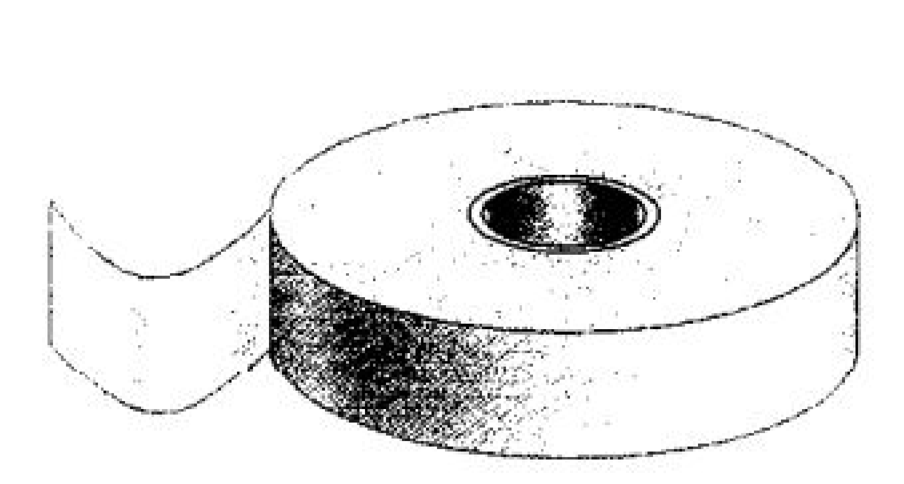
تُكْشَف بيوض السرمية الدويدية بشكل أسهل عادةً في طيات الجلد حول الشرج (انظر: أدناه).



طريقة أخذ وفحص البيوض

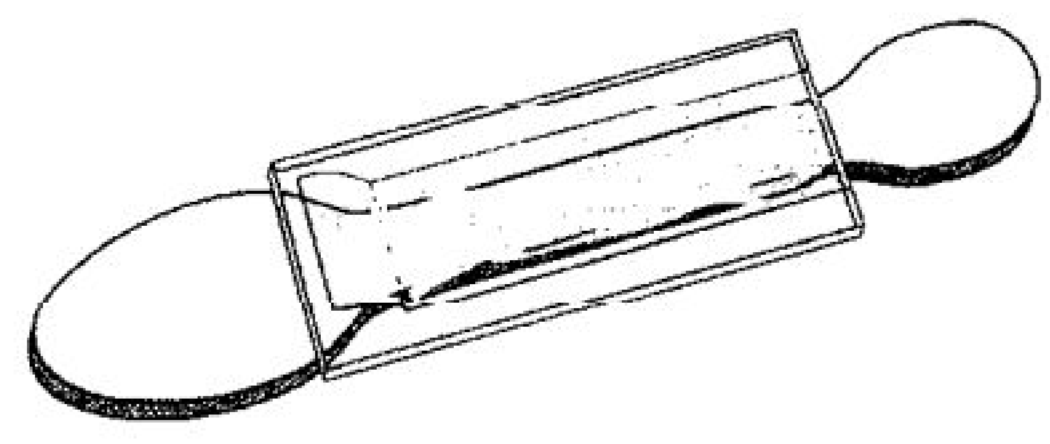
المبدأ

إن بيوض الدودة الدبوسية (= الأقْصور = السُرميّة الدويدية = الحُرْقُص) تُجْمَع عادةً من طيات الجلد المحيط بالشرج (وخاصةً في الأطفال)، ونادراً ما تظهر في البراز.


الشكل 55.4. تحضير الشريحة لأخذ بيوض الدودة الدبوسية (السرمية الدويدية).

المواد والكواشف

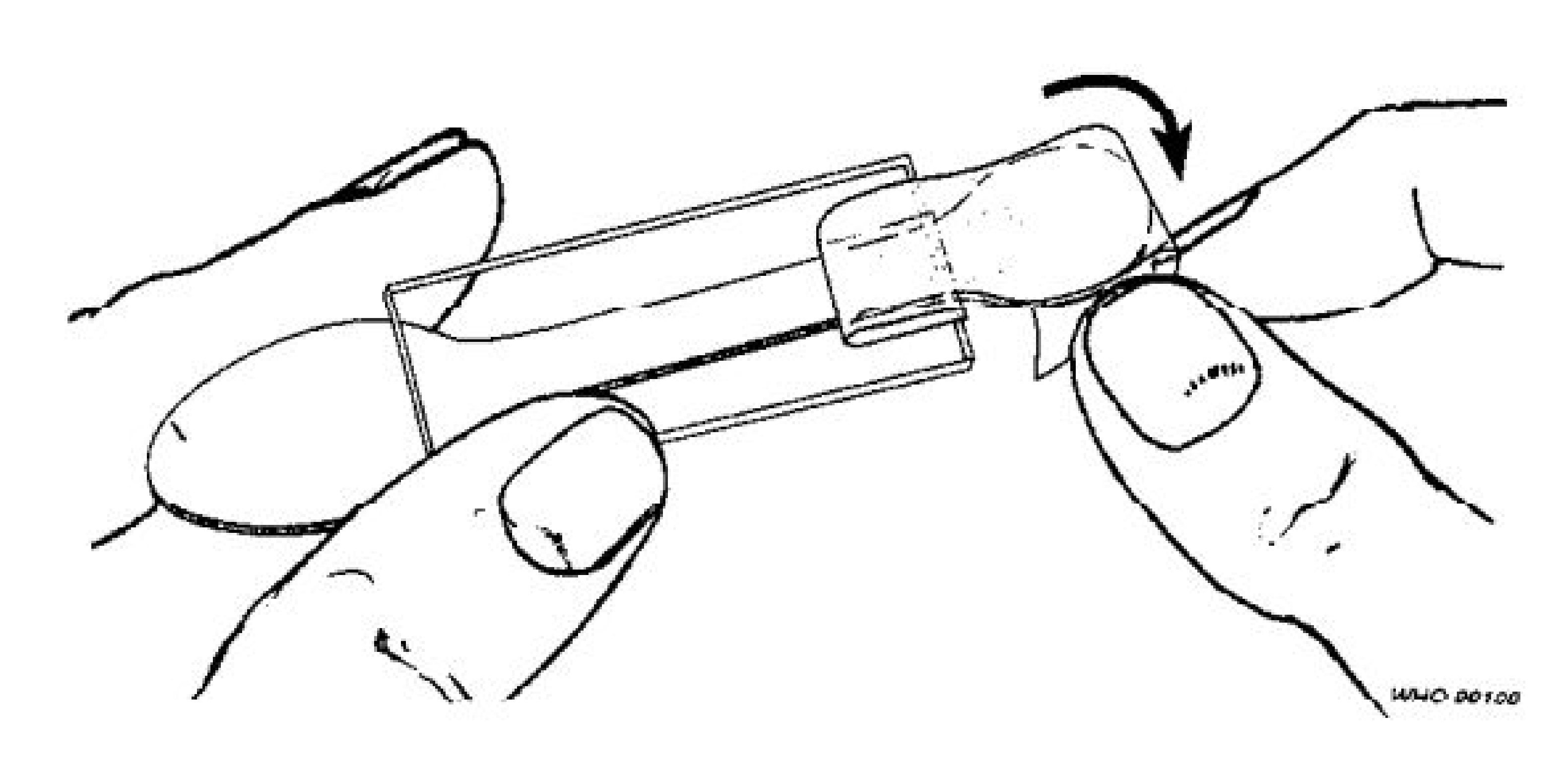
- مجهر.
- شرائح مجهرية
- أنابيب اختبار
- ممص باستور
- شريط لاصق من السيلوفان.
- ملعقة طول قبضتها 10سم أو –وهو الأفضل– خافض لسانٍ خشبي.
- قطن
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف 53).


الشكل 56.4. وضع قبضة الملعقة على الوجه السفلي للشريحة.

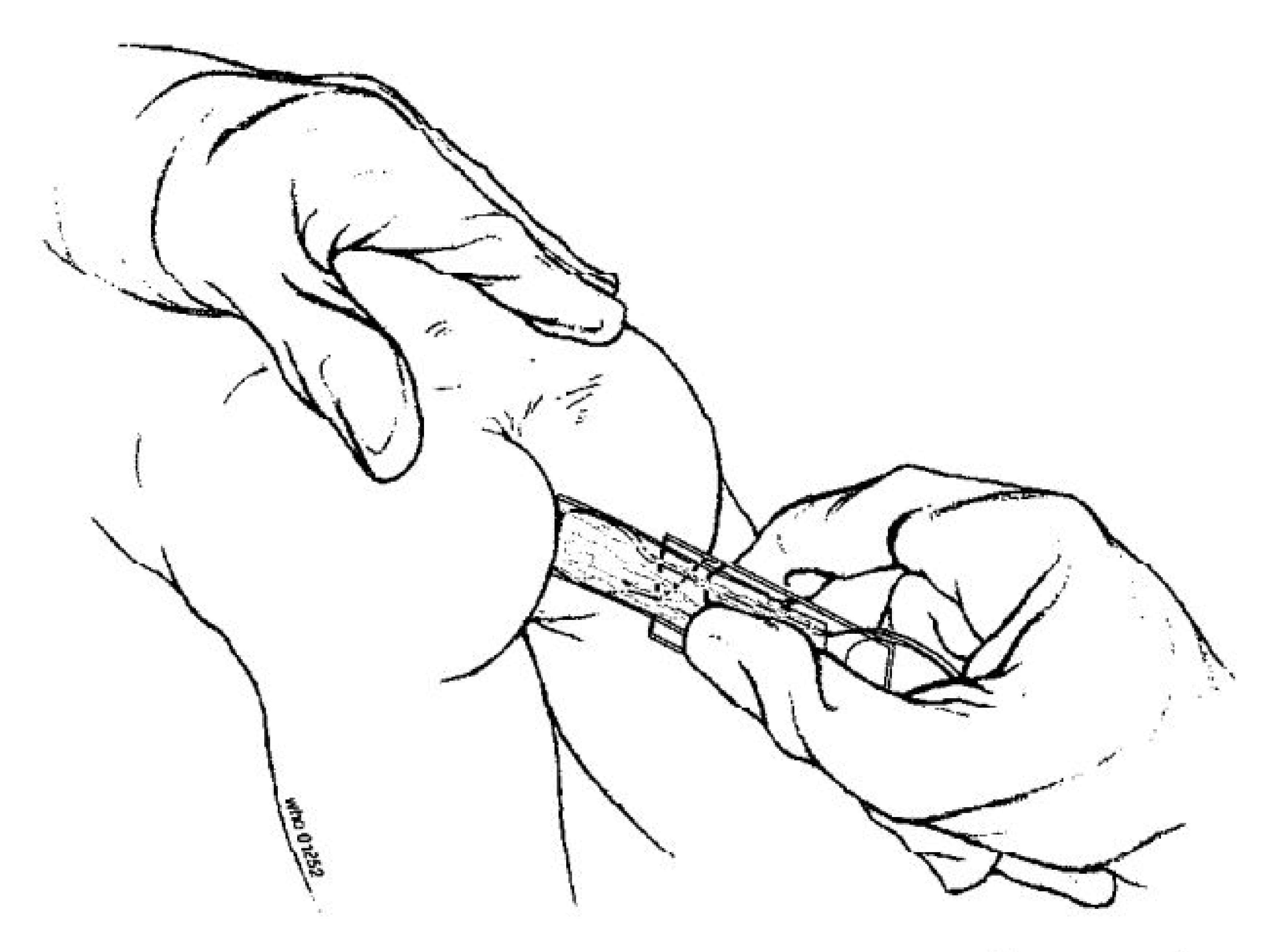
الطريقة

1. يُطبق شريط السيلوفان –ووجهه اللاصق إلى الأسفل– على شريحة كما يبدو في الشكل 55.4.
2. توضع قبضة الملعقة على الوجه السفلي للشريحة (الشكل 56.4).

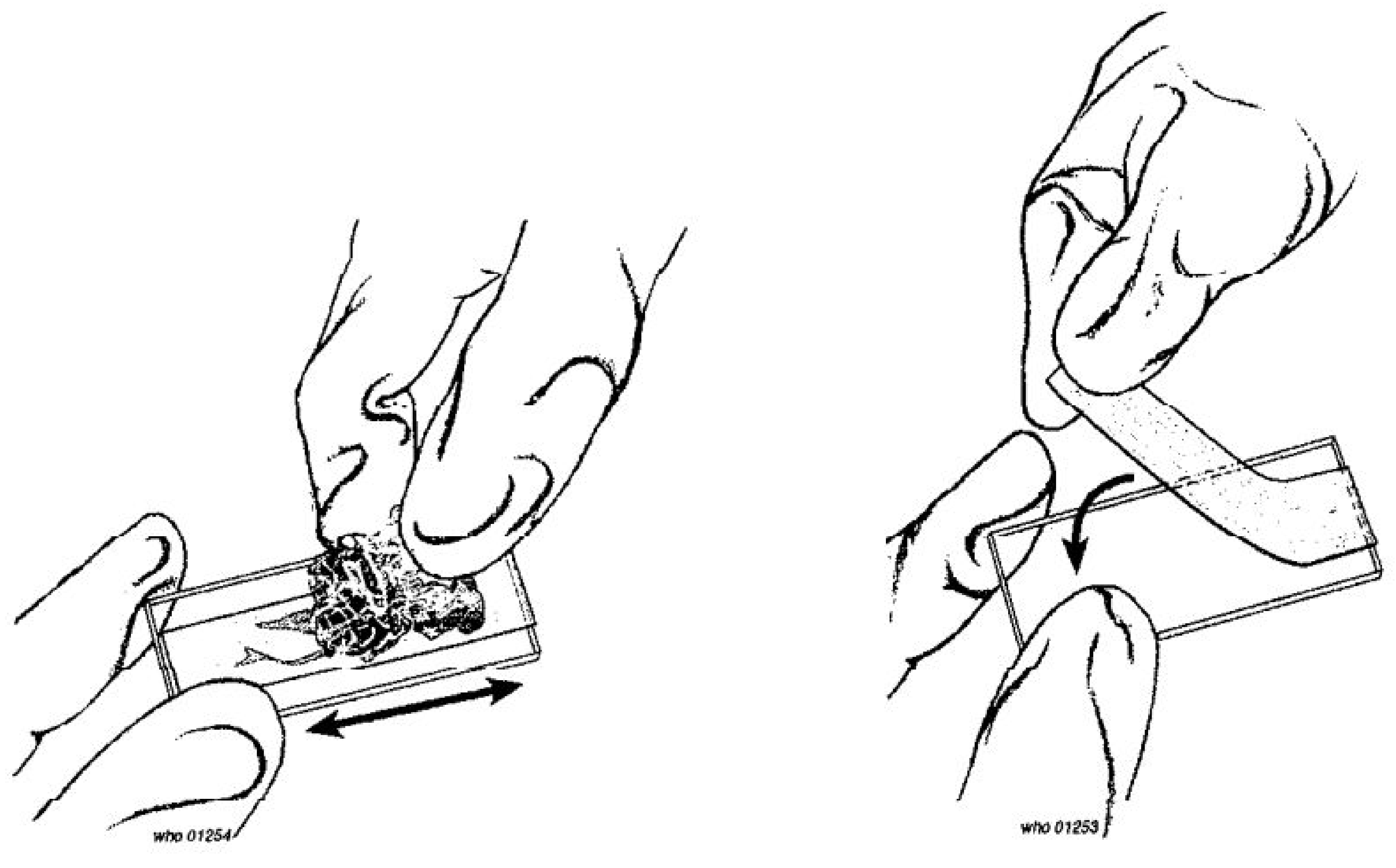
3. يُنْزَع الشريط الملصوق على الشريحة بلطف وأناة ويُطْوى ويُلَفّ على نهاية قبضة الملعقة كما يبدو في الشكل 57.4.
4. تُمْسَك هذه الماسحة اللاصقة باليد اليمنى، مع صغط التريحة جيداً على الملعقة.
5. تباعد أَلْيَتَا المريض باليد اليسرى، ثم تُضغط نهاية الملعقة المغطاة بالشريط اللاصق على الجلد المحيط بالشرج في عدة أماكن (الشكل 58.4).
6. تؤخذ الشريحة، ويُفْرَد الشريط اللاصق مجدداً نحو الخلف على الشريحة، ووجهه اللاصق إلى الأسفل (الشكل 59.4).
7. يتم التأكد من انفراش الشريط والتصاقه جيداً بالشريحة وذلك بضغطه عليها بقطعة من القطن (الشكل 60.4).
8. يُفْحَص بالمجهر – مع تضييق فتحة المكثفة– بالعدسة الشيئية 10×، ويُبْحَث عن بيوض السرمية الدويدية (انظر: الشكل 54.4).



الشكل 57.4. لف الشريط على نهاية قبضة الملعقة.



الشكل 58.4. طريقة أخذ بيوض الدودة الدبوسية (السرمية الدويدية) من رضيع.



الشكل 59.4. نقل العينة إلى الشريحة.

الشكل 60.4. التأكد من انفراش الشريط والتصاقه جيداً بالشريحة.

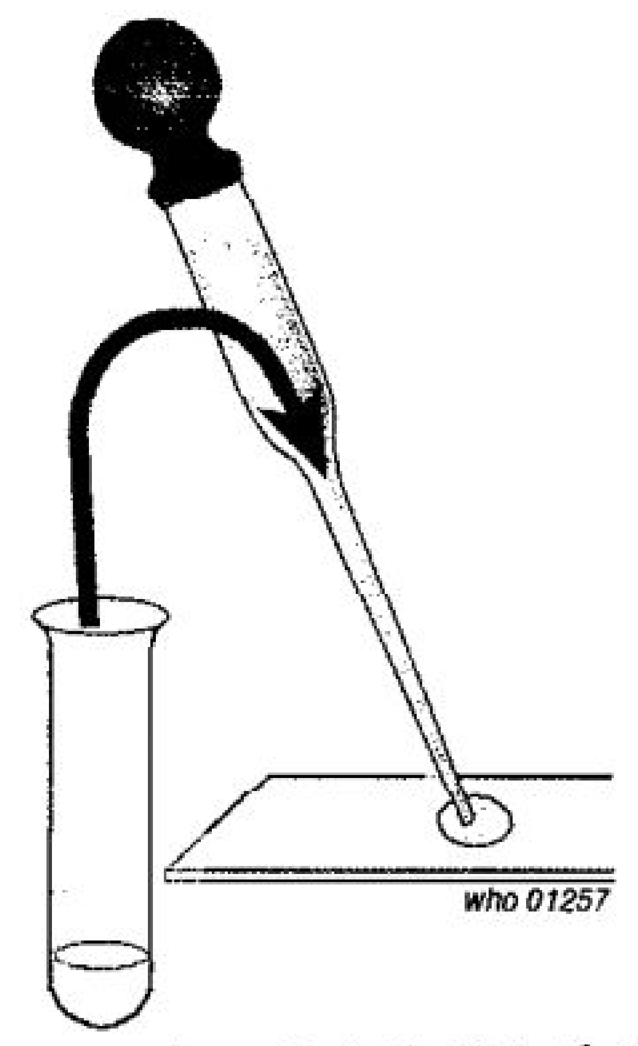


الشكل 61.4. طريقة بديلة لأخذ بيوض الدودة الدبوسية (السرمية الدويدية) من رضيع.

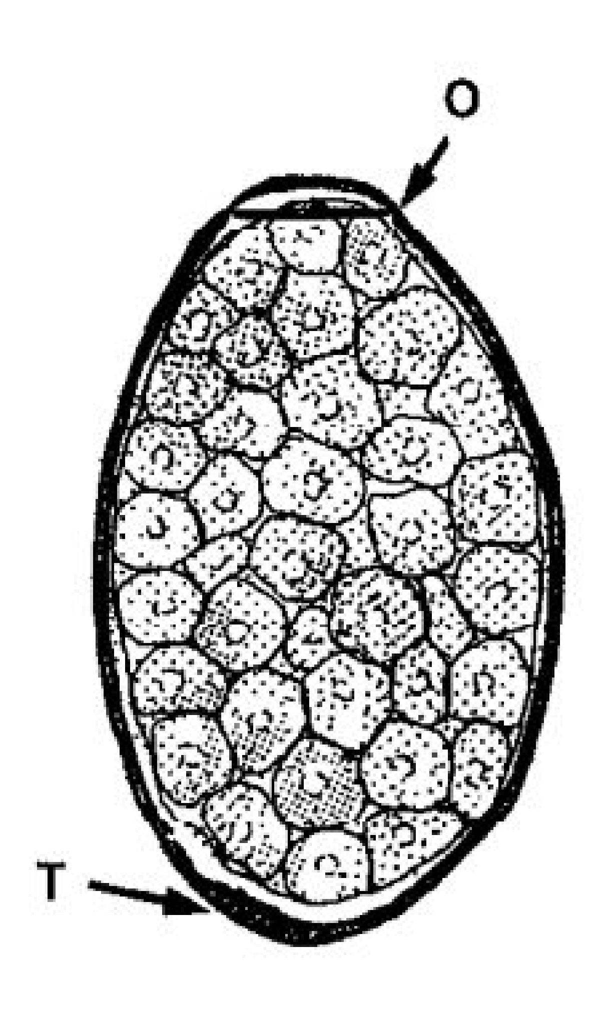
الشكل 62.4. نقل العينة إلى أنبوب اختبار.

طريقة بديلة

1. إذا لم يتوافر شريط السيلوفان اللاصق تستعمل ماسحة قطنية لمسح حوالي الشرج (وليس باطنه) (الشكل 61.4).
2. تُغْمَس الماسحة في أنبوب اختبار يحتوي على حوالي 0.5 مل (10 قطرات) من محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 41)، وتُخَضْخَضُ الماسحة جيداً في المحلول (الشكل 62.4).
3. يُسْحَب السائل بممص باستور، وينقل إلى شريحة (الشكل 63.4) ويغطى بساترة، ويفحص بالمجهر كما تقدم في الخطوة 8 أعلاه.



الشكل 63.4. نقل العينة إلى شريحة.



الشكل 64.4. بيوض المتورقة الكبدية.
T: ثخانة؛ O: وصاد

المُتوَرِّقة الكَبِديَّة Fasciola hepatica (الشكل 64.4)

الحجم: المتورقة الكبدية: 130–145 مكم.

الشكل: بيضاوية ذات أقطاب مدورة.

القشرة: ملساء ناعمة ذات خط مزدوج.

المحتوى: كتلة من خلايا كبيرة غير متميزة ذات نوى حبيبية رائقة (يُحكم لولب المجهر لتبديل البؤرة).

اللون: يتراوح ما بين الأصفر والبني القاتم.

الملامح الأخرى: وصاد ناعم واضح في أحد القطبين، وقد يرى الجدار الخلوي منكمشاً. وتوجد ثخانة في جزء صغير من الجدار الخلوي في القطب المقابل.

لا يكْتشَف سوى أعداد قليلة من البيوض في البراز (ويمكن تحريها في الرُّشافات الإثنا عشرية في الحالات المشبوهة).

المُتوَارِقَة البوسكية Fasciolopsis buski (الشكل 65.4)

تشابه كثيراً بيضة المتورقة الكبدية.

الحجم: 125–140مكم.

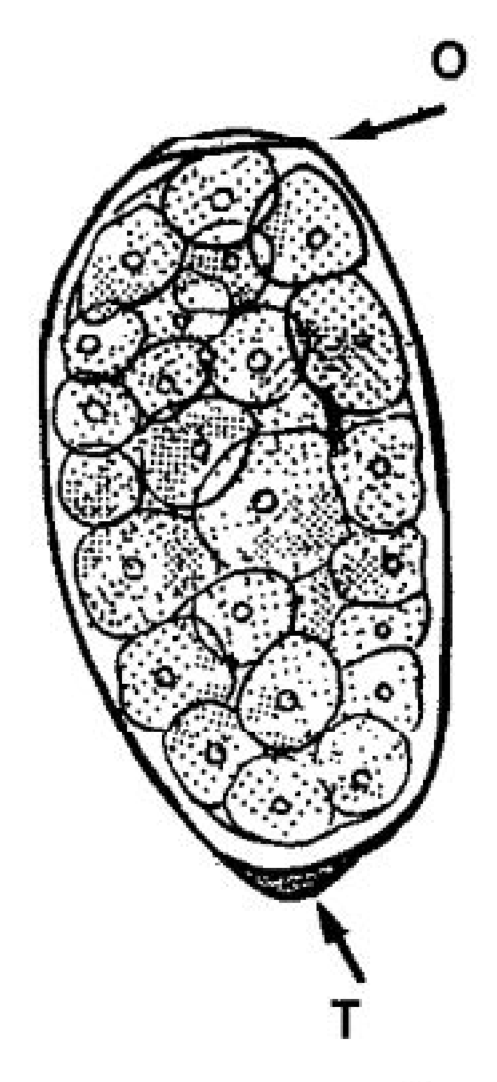
الشكل: بيضاوي.

القشرة: أرق من قشرة المتورقة الكبدية، وهي خط مفرد ذو ثخانة ملحوظة في الجدار في القطب المقابل للوصاد.

الوصاد: أصغر قليلاً من وصاد المتورقة الكبدية.

المحتوى: الخلايا يمكن أن تكون لامعة، مع خلية واحدة رائقة في مركز البيضة.

توجد البيوض غالباً بكميات كبيرة في البراز.



الشكل 65.4. بيوض المتوارقة البوسكية. T: ثخانة؛ O: وصاد

الخَيفانَة الخَيفاء Heterophyes heterophyes (الشكل 66.4)

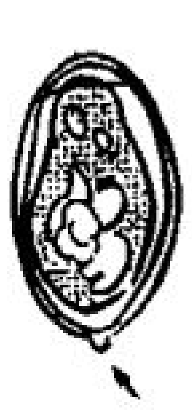
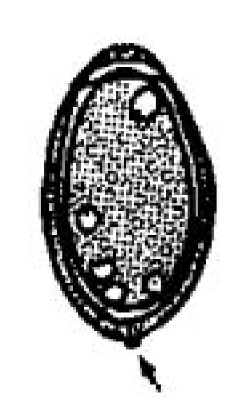
مماثلة لبيوض متفرع الخصية الصيني (الشكل 49.4) .

الحجم: 25–30 مكم.

الشكل: أكثر بيضاوية من بيضة متفرع الخصية الصيني، ولا توجد حافة حول الوصاد.

القشرة: أثخن بقليل من قشرة متفرع الخصية الصيني.

الشوكة أو العكدة (البرزة): صغيرة بشكل ثؤلول في النهاية العريضة من البيضة، ولا تكون مرئية دائماً.

الشكل 66.4. بيوض الخيفانة الخيفاء.




الشكل 67.4. بيوض المحرشفة الضئيلة.

المحتوى: كتلة من الخلايا تكون أحياناً ذات حبيبات كبيرة لامعة (غير مخصبة) أو جنين مُهَدَّب.

اللون: أصفر إلى بني قاتم.

المُحَرْشَفَة الضئيلة Hymenolepis diminuta (الشكل 67.4)

أنواع نادرة (ترى في براز الأطفال).

الحجم: 70–90 مكم (أكبر بكثير من بيوض المحرشفة القزمة).

الشكل: مدور.

القشرة: القشرة الخارجية رقيقة ذات خطوط عرضانية، والقشرة الداخلية ثخينة جداً من دون خيوط.

المحتوى: جنين يحتوي على ستة شصوص مرتبة بشكل المروحة.

اللون: شفافة أو صفراء شاحبة.

المحرشفة القَزَمَة hymenolepis nana (الشكل 68.4)

الحجم: 40–60 مكم.

الشكل: بيضاوية تكاد تكون مدورة.

القشرة: مضاعفة، والغشاء الخارجي رقيق والغشاء الداخلي أثخن غالباً عند القطبين مع خيوط منبثقة من كلا القطبين (تُخفَّف شدةُ ضوء المجهر لرؤيتها) تختلط بحبيبات تشغل الحيز الموجود بين الغشائين.

المحتوى: كتلة مدورة (الجنين) ذات 6 شصوص لامعة مرتبة بشكل المروحة وترى غالباً حسكات مُحَدَّدَة جداً في المركز.

اللون: رمادي شاحب جداً.

ملاحظة هامة: يسجل ما إذا كان هنالك عدد كبير أو قليل من هذه البيوض.



الشكل 68.4. بيوض المحرشفة القزمة.

خلفية المَناسل اليوكوغاوية Metagonimus yokogawai (الشكل 69.4)

البيوض مماثلة لبيوض متفرع الخصية الصيني والخيفانة الخيفاء (الشكلين 49.4 و 66.4).

الحجم: 25–30 مكم.

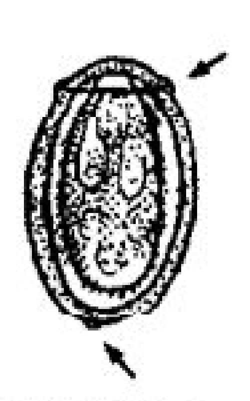
الشكل: بيضاوية دون نتوء أو انتفاخ ملحوظ.

القشرة: أثخن منها في بيوض متفرع الخصية الصيني والخيفانة الخيفاء.

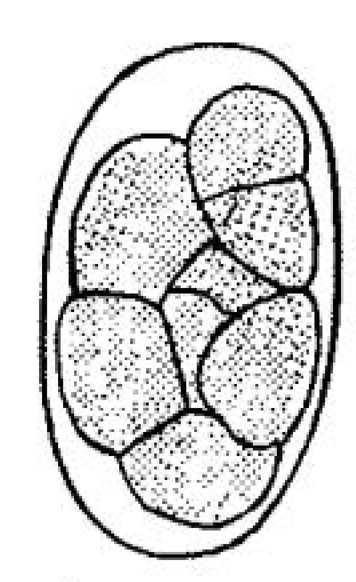
الوصاد: أكثر تدوراً مما هو في الخيفانة الخيفاء، وحافته أقل مما هي في متفرع الخصية الصيني.

الشوكة أو العكدة (البرزة): دقيقة جداً أو غير مرئية وتكون على النهاية الأضيق للبيضة.

المحتوى: جنين مهدب.



الشكل 69.4. بيوض خلفية المناسل اليوكوغاوية.


الشكل 70.4. بيوض الفتاكة الأميركية.

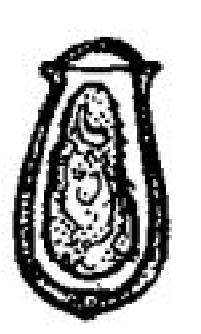
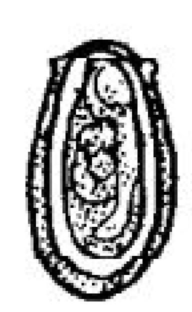
الفَتّاكة الأميركية Necator americanus (الشكل 70.4)

البيضة تكاد تكون مماثلة لبيضة الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الشكل 42.4).

الحجم: 60–80مكم أطول قليلاً من بيضة الأنكيلوستوما الإثنا عشرية.

الشكل: بيضاوية مع قطبين مسطحين مدورين (أكثر تسطحاً من بيضة الأنكيلوستوما الإثنا عشرية).

المحتوى: تحتوي دائماً على ثماني خلايا على الأقل (ولا تحتوي أبداً على أربعة كالأنكيلوستوما الإثنا عشرية في البراز الطازج).



الشكل 71.4. بيوض متأخر الخصية الهري.

متأخر الخصية الهري Opisthochis felineus (الشكل 71.4)

مماثلة لبيوض متفرع الخصية الصيني (الشكل 49.4).

الحجم: 25–35 مكم (مماثل لمتفرع الخصية الصيني).

الشكل: أضيق قليلاً في القاعدة وأقل انتفاخاً من متفرع الخصية الصيني، وبعض البيوض غير متناظرة.

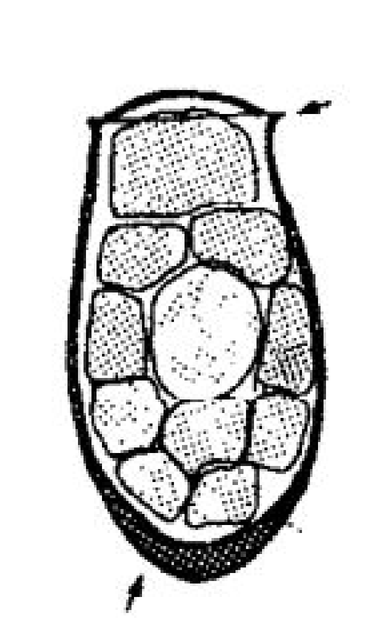
الوصاد: حافته أقل وضوحاً من متفرع الخصية الصيني.

الشوكة أو العكدة (البرزة): نادراً ما ترى.

المحتوى: جنين مهدب.

يصعب التمييز بين بيوض متأخر الخصية الهري، ومتفرع الخصية الصيني، والخيفانة الخيفاء، وخلفة المناسل اليوكوغاوية:

- متأخر الخصية الهري: ضيقة وغالباً ذات شكل غير متناظر والشوكة أو العكدة (البرزة) غير مرئية.
- متفرع الخصية الصيني: قصيرة وثخينة والوصاد ذو حافة واضحة.
- الخيفانة الخيفاء قصيرة وثخينة ولونها أكثر قتامةً.
- خلفية المناسل اليوكوغاويه: قشرة أثخن.


الشكل 72.4. بيوض جانبية المناسل الوسترمانية.

جانبية المناسل الوسترمانية Paragonium westermani (الشكل 72.4)

توجد البيوض في القشع بصورة رئيسية (ولو أنها إذا ابتلعت تخرج مع البراز).

الحجم: 65–120مكم (أصغر من بيوض المتوارقة البوسكية).

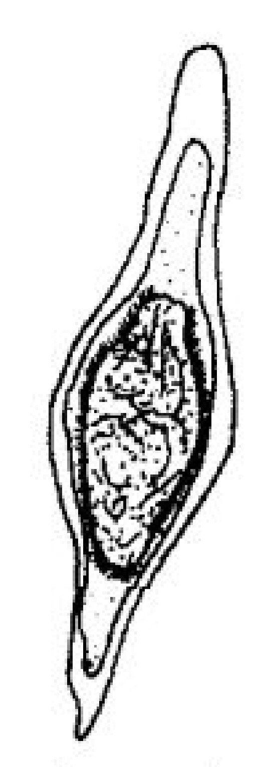
الشكل: بيضاوية، وغالباً مبسطة قليلاً في أحد الجانبين.

الوصاد: متميز تماماً مع حافة واضحة.

القشرة: ثخينة ثخناً متميزاً في الطرف المقابل للوصاد.

المحتوى: حيز مركزي رائق محاط بخلايا مُرَبَّعيَّة.

اللون: بني ذهبي.


الشكل 73.4. بيوض البلهارسية البقرية.

البلهارسيّة البقرية Schistosoma bovis (الشكل 73.4)

توجد البيوض في براز المرضى الذين أكلوا لحم البقر المُعْدى بها.

الحجم: كبير جداً 200 مكم.

الشكل: مغزلية الشكل ذات نهايات ضيقة تَتَبارز مُتَجاوِزَةً الجنين.

الشوكة: شوكة نهائية طويلة.

المحتوى: جنين مدور صغير يستقر في مركز البيضة ولكنه لا يملؤها.

البلهارسية البقرية لا تسبب المرض للإنسان.

البلهارسية الدموية Schistosoma haematopium (الشكل 74.4)

توجد بيوضها في البول (لكشفها انظر: الفقرة 8.2.7) وأحياناً في البراز.

الحجم: 110–150 مكم.

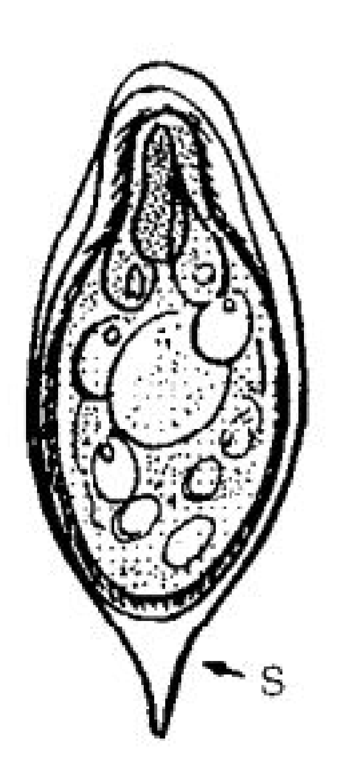
الشكل: بيضاوية ذات قطب واحد مدور تماماً.

الشوكة: نهائية وتستقر في القطب الآخر.

القشرة: ملساء رقيقة جداً.

المحتوى: جنين مهدب عريض جيد التشكل محاط بغشاء (القشرة الداخلي).

اللون: أصفر شاحب أو رمادي.



الشكل 74.4. بيوض البلهارسية الدموية. S: شوك

البلهارسية المُقحَمة Schistosoma intercalatum (الشكل 75.4)

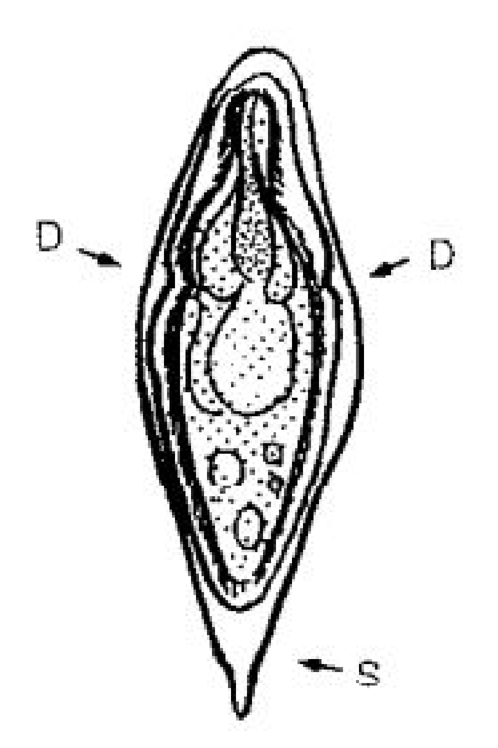
تماثل في المظهر بيوض البلهارسية الدموية (الشكل 74.4)، ولكنها توجد في البراز.

الحجم: أكبر قليلاً من البلهارسية الدموية (140–180 مكم).

الشكل: مغزلية الشكل، وأقل عرضاً من البلهارسية الدموية (الجوانب مسطحة وعلى الخصوص باتجاه القطب المدور).

الشوكة: شوكة انتهائية أطول وأكثر نحولاً منها في البلهارسية الدموية.

المحتوى: جنين مهدب محاط بغشاء فيه انخماصان أو ثُلْمَتان كل منهما في أحد الجانبين قرب المنتصف.



الشكل 75.4. بيوض البلهارسية المقحمة. D: انخفاض؛ S: شوك

البلهارسية اليابانية Schistosoma japonicum (الشكل 76.4)

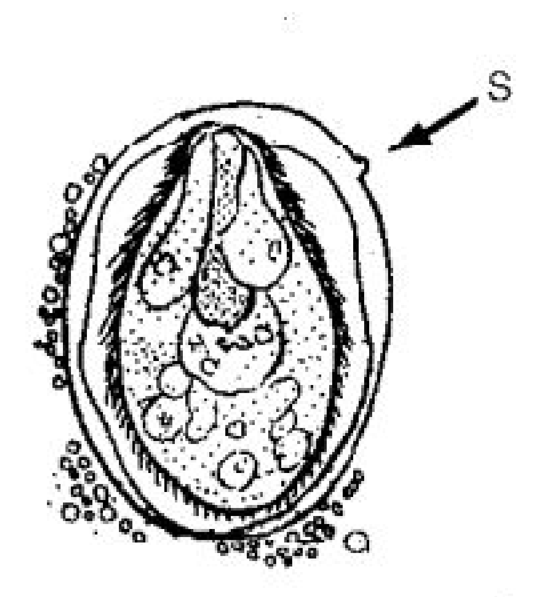
الحجم: 70–100 مكم.

الشكل: بيضاوية تكاد تكون مدورة.

الشوكة: تصعب رؤيتها فهي جانبية وصغيرة جداً، وقد تخبئها بعض الحبيبات الصغيرة (G) الموجودة غالباً على سطح البيضة.

المحتوى: جنين مهدب عريض.

اللون: شفافة أو صفراء شاحبة.



الشكل 76.4. بيوض البلهارسية اليابانية. G: حبيبات؛ S: شوك

البلهارسية المنسونية Schistosoma mansoni (الشكل 77.4)

الحجم: 110–180 مكم

الشكل: بيضاوي مع قطب واحد جيد الاستدارة وقطب آخر أكثر مخروطية.

الشوكة: جانبية قرب القطب المدور، ومثلثية وكبيرة (وإذا كانت مختبئة تحت غيرها فيمكن إظهارها بمجرد إحكام بؤرة المجهر).

القشرة: ملساء رقيقة جداً.

المحتوى: جنين مهدب عريض محاط بغشاء (القشرة الداخلية) كما في سائر أنواع البلهارسيات.

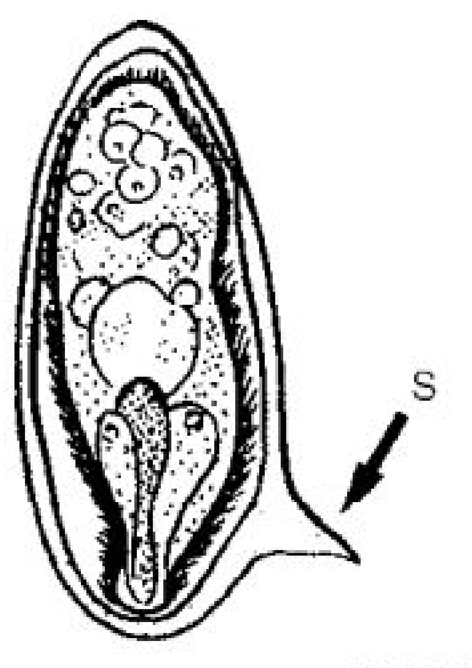
اللون: أصفر شاحب.

طريقة اللطاخة البرازية الثخينة بالسيلوفان لتشخيص عدوى البلهارسية المنسونية (طريقة كاتو–كاتز)

أثبتت طريقة كاتو–كاتز أنها وسيلة كُفْأة لتشخيص عدوى البلهارسية المنسونية وبعض عداوى الديدان المعوية الأخرى؛ ويمكن تحضير الشرائح ميدانياً واختزانها في علب خاصة بالشرائح المجهرية وشحنها لمسافات بعيدة لفحصها في مختبر مركزي إذا لزم الأمر؛ ولكن الطريقة غير مناسبة لتشخيص داء الأسطوانيات أو العداوى بالدودة الدبوسية (الأُقْصور) أو الحيوانات الأوالي.

المواد والكواشف

- عود خشبي ذو جانب مسطح.
- منخل من الفولاذ المقاوم للصدأ أو النيلون أو البلاستيك، عيون شبكته 60–105.
- مِرْصاف template من الفولاذ المقاوم للصدأ أو البلاستيك أو الورق المقوى.
- مجهر.
- شرائح مجهرية.
- السيلوفان بثخانة 40–50 مكم وبشكل أشرطة 25×30 مم أو 25×35 مم.



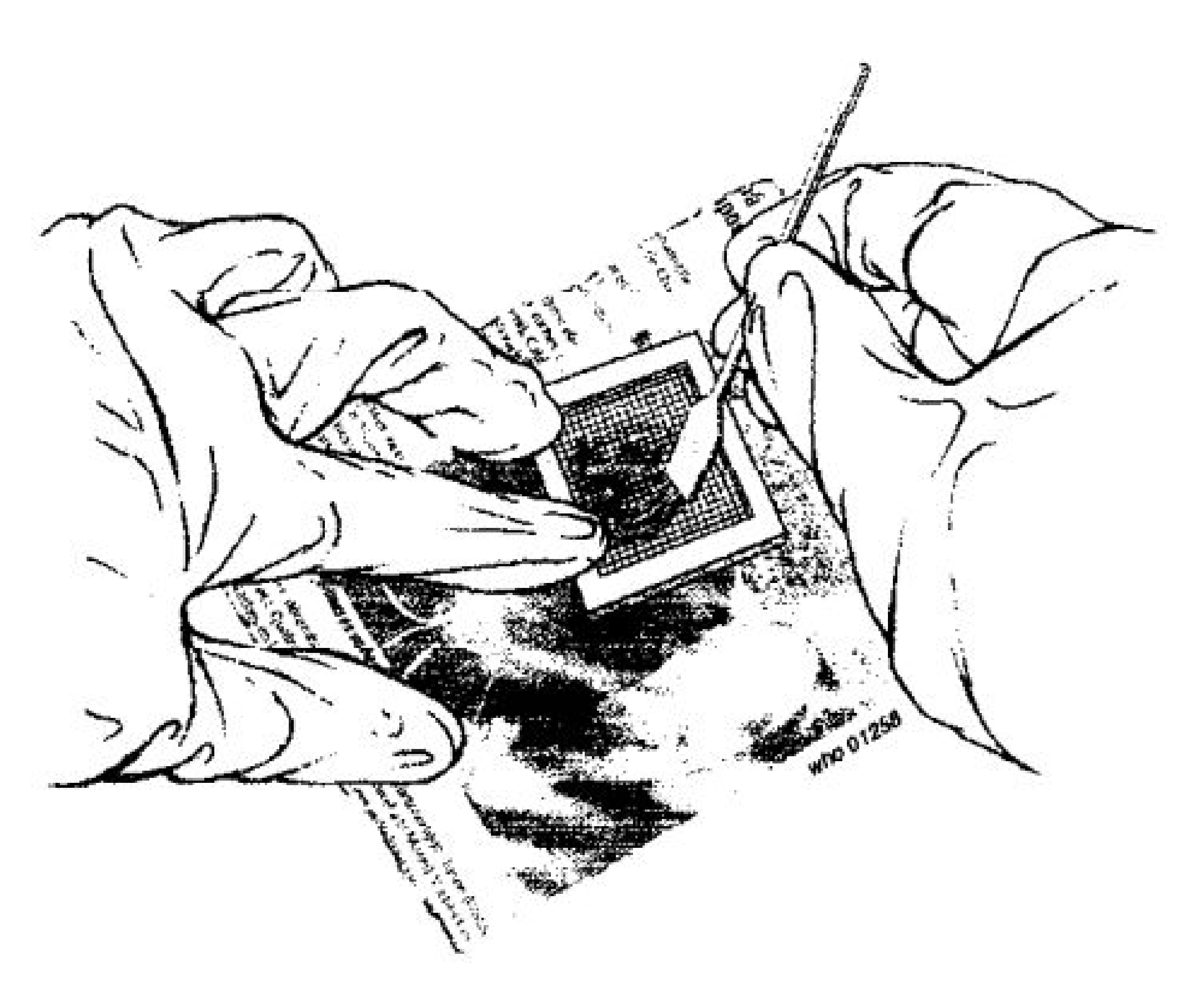
الشكل 77.4. بيوض البلهارسية المنسونية. S: شوك

- مَرْطَبانjar مسطح القعر.
- ملقط.
- مناديل ورقية أو نسيج ماص.
- ورق نفايات (مثل ورق الجرائد).
- محلول الغليسيرول ـ الخُضْرَة الدُّهْنَجِيَّة (الكاشف رقم 31) أو المحلول المائي لزرقة الميثيلين (الكاشف رقم 39).

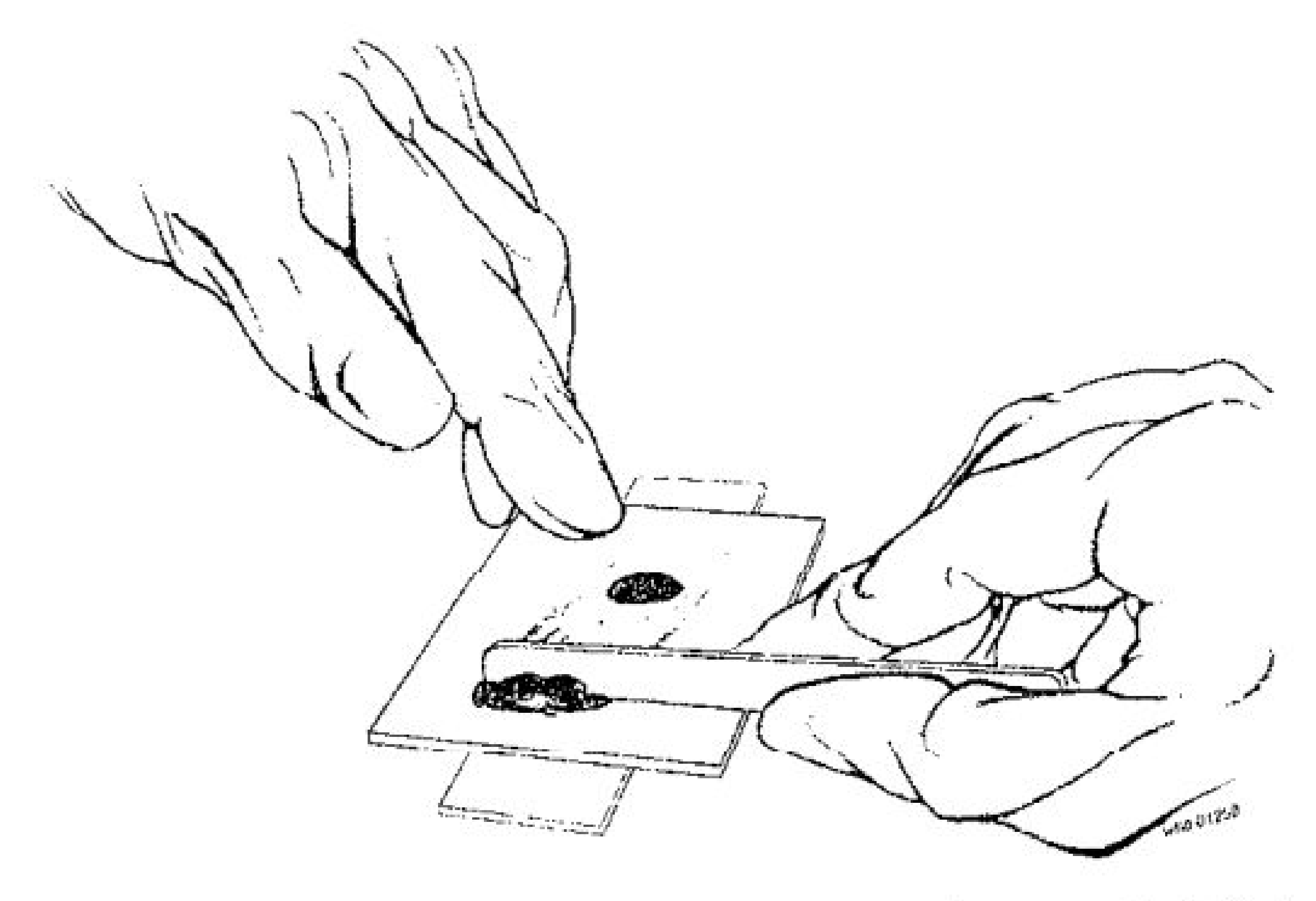
الطريقة

يجب الانتباه إلى تجنب التلوث خلال أخذ نماذج البراز، فيجب لبس القفازات دائماً.

1. تُنْقَع أشرطة السيلوفان في محلول الغليسيرول ـ الخُضْرَة الدُّهْنَجِيَّة أو زرقة الميثيلين لمدة 24 ساعة على الأقل قبل الاستعمال.
2. يؤخذ مقدار صغير (0.5 غ تقريباً) من البراز ويوضع فوق قطعة من ورق النفايات (ورق الجرائد مثالي لهذا الغرض).
3. يُضْغَط المنخل فوق قمة عينة البراز.
4. باستعمال العود الخشبي ذو الجانب المسطح تُكْشَط عينة البراز من خلال السطح العلوي للمنخل لنَخْلها (الشكل 78.4).
5. يوضع مِرْصاف على شريحة مجهرية نظيفة. وتُنْقَل المادة البرازية المَنْخولَة إلى ثقب المرصاف وتُمَهَّد (تُسَوّى) بالعود الخشبي (الشكل 79.4).
6. يُرْفَع المرصاف بعناية بحيث تُترَك المادة البرازية كلها على الشريحة ولا يبقى شيء منها لاصقاً بالمرصاف.
7. تغطى عينة البراز على الشريحة بشريطٍ من السيلوفان مغموس في الغليسيرول (الشكل 80.4).
8. إذا وُجِد أيُّ أثر للغليسيرول على السطح العلوي للسيلوفان فيُمْسَح بقطعة صغيرة من النسيج الماص.
9. تُقْلَب الشريحة المجهرية وتُضْغَط عينة البراز على السيلوفان فوق سطح أملس (قطعة من القرميد أو حجر مسطح مثاليان لهذا الغرض) لفَرْش العينة بانتظام.



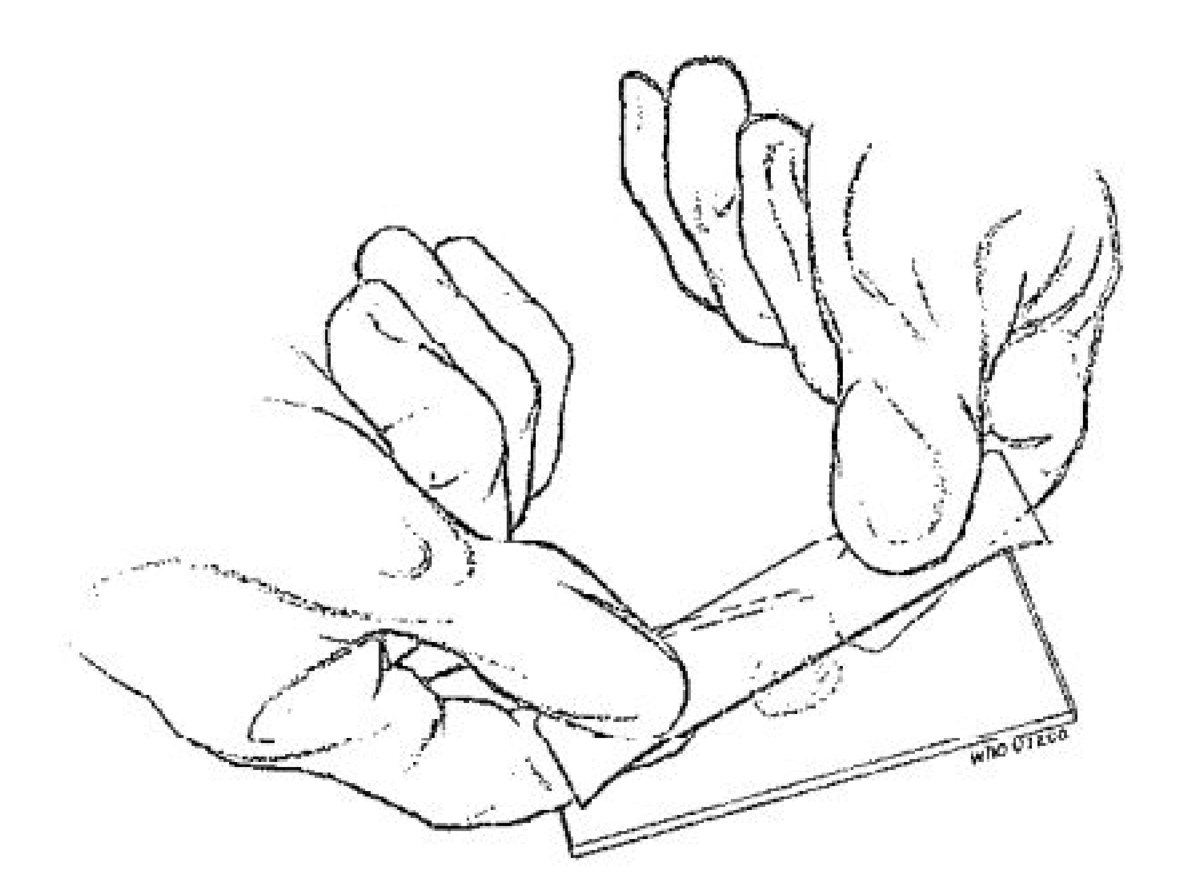
الشكل 78.4. باستعمال عود خشبي تُكْشَط عينة البراز من خلال السطح العلوي للمنخل لنَخْلها.



الشكل 79.4. ملء المرصاف بالعينة البرازية المنخولة.

10. يجب ألا تُرْفَع الشريحة للأعلى مباشرةً وإلا فقد تنفصل عن السيلوفان، بل تُزْلَق الشريحة المجهرية جانبياً مع المحافظة على السيلوفان ملاصقاً لها في الوقت ذاته.

يكون تحضير الشريحة مكتملاً بذلك، وعندئذٍ يُمْسَح أي فائض من الغليسيرول بقطعة من النسيج الماص لضمان بقاء السيلوفان مثبتاً؛ ويمكن بالممارسة الحصول على تحضيرات مثالية.



الشكل 80.4. تغطية العينة بشريط من السيلوفان مغموس في الغليسيرول.



الأسْطوانِيَّة البرازية strongyloides stercoralis(الشكل 81.4)

نادراً ما ترى بيوض الأسطوانية البرازية في البراز المتماسك لأنها تفقس قبل التبرز وتعطي يَرَقَات، بَيْد أنها قد تُكْشَف في البراز السائل (وأحياناً في البراز المتماسك لحَمَلَة بعض الذراري)

وبيوض الأسطوانية البرازية مشابهة جداً لبيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الشكل 42.4).

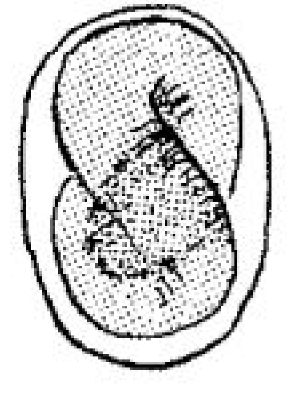
الحجم: 50 مكم (أصغر قليلاً من الأنكيلوستوما الإثنا عشرية).

الشكل: بيضوي مع قطبين مبسطين قليلاً.

القشرة: رقيقة جداً، وتبدو كخط أسود.

المحتوى: يرقة ثخينة ملتفة حول نفسها مرة أو مرتين، وأحياناً متحركة.

اللون: تكون الخلايا في الداخل رمادية شاحبة (ويلونها المحلول اليودي بالبني القاتم).



الشكل 81.4. بيوض الأسطوانية البرازية.

الشريطية العزلاء والشريطية الوحيدة Taenia saginata and T.solium (الشكل 82.4 a)

تكون «بيوض»[1] هاتين الشريطيتين متماثلة عملياً ويمكن أن توجد في البراز كما يمكن أن توجد بيوض الشريطية العزلاء في الجلد حول الشرج (ص 136).

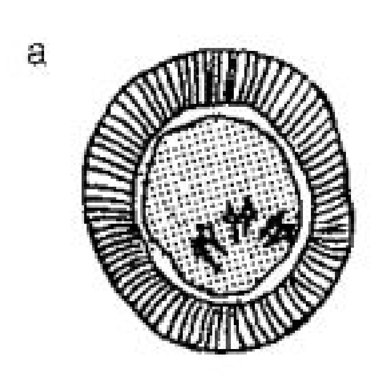
الحجم: 30–80 مكم.

الشكل: مدورة.

القشرة: ثخينة جداً وملساء ذات خطوط مستعرضة (تُخَفِّف الإنارةُ).

المحتوى: كتلة حبيبية مدورة ضمن غشاء رقيق، ذات ثلاثة أزواج من الشُّصوص اللامعة السنانية الشكل (تُضْبَط البؤرة).

1. التسمية الصحيحة لهذه البيوض هي«محمل الجنين» وتعني البيوض التي خسرت محفظتها الخارجية.



اللون: قشرة بنية مصفرة قاتمة، المحتوى رمادي مصفر فاتح.

الملامح الأخرى: أحياناً تكون البيضة عائمة ضمن كيس شفاف (الشكل 82.4 b).

أنواع الأُسْطونيَّة الشعرية trichostrngylus spp. (الشكل 83.4)

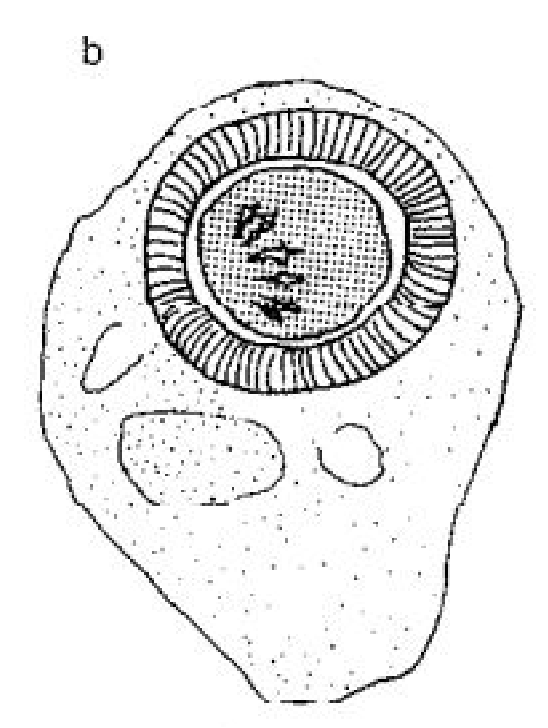
مماثلة تماماً لبيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (انظر: الشكل 42.4).

الحجم: 75–115مكم (أكبر بقليل من بيوض الأنكيلوستوما الإثنا عشرية).

الشكل: بيضاوية غير متناظرة ذات قطب مدور وقطب آخر أضيق.

القشرة: رقيقة جداً وملساء (كقشرة الأنكيلوستوما الإثنا عشرية).

المحتوى: كتلة تحوي مالا يقل عن 20 خلية حبيبية مدورة صغيرة (في البراز الطازج)؛ وسرعان ما تتنامى البيضة إلى جنين.



الشكل 82.4. بيوض أنواع الشريطية.
a: بيضة طبيعية؛
b: بيضة عائمة في كيس شفاف

المُسَلَّكَة الشعرية الذيل Trichuris trichiura (الشكل 84.4)

الحجم: 50–65مكم.

الشكل: برميلية الشكل.

القشرة: ثخينة نوعاً ما وناعمة وذات طبقتين.

المحتوى: كتلة حبيبية متجانسة (وتكون منقسمة أحياناً في البراز القديم).

اللون: القشرة برتقالية؛ والمحتوى أصفر.

الملامح الأخرى: سدادة شفافة مدورة في كل من القطبين.

ملاحظة هامة: من المهم أن نذكر فيما إذا كان عدد البيوض الموجودة كثيراً أو قليلاً.

أشكال ينبغي ألا تلتبس بالبيوض

حبيبات النشا من النباتات (الشكل 85.4)

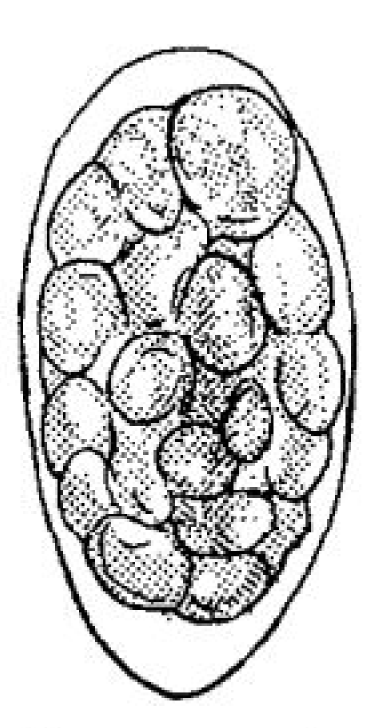
الحجم: 50–100 مكم.

الشكل: مدورة أو بيضاوية ومتطاولة لكن المحيط دائماً غير منتظم مع تَسَنُّنات خشنة.

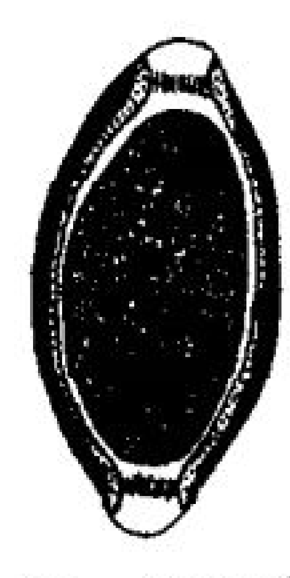
القشرة: ثخينة في بعض الأماكن وغير منتظمة أبداً وفيها فُلوع.

المحتوى: كتل من النشا مَرْزومَة معاً.

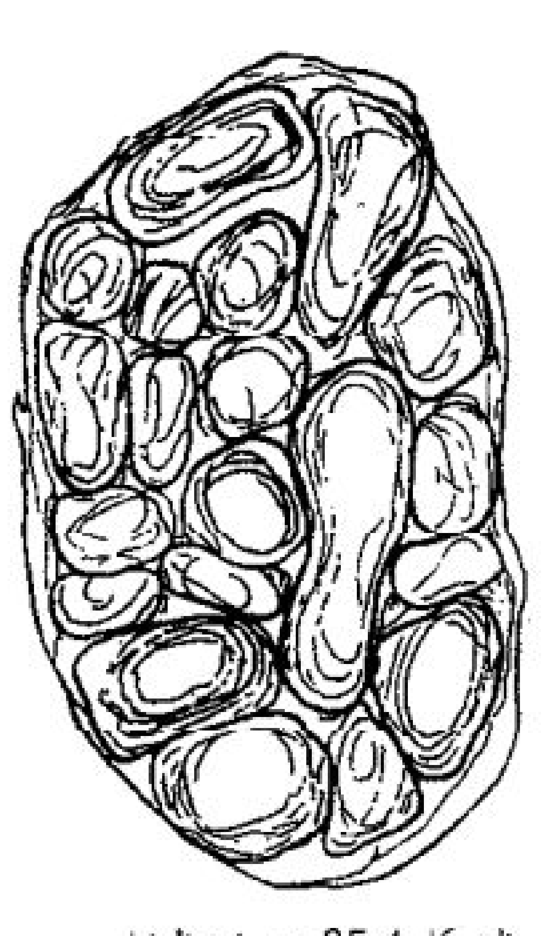
اللون: بيضاء أو صفراء رمادية، وتكون بنفسجية بعد التلوين بالمحلول اليودي.



الشكل 83.4. بيوض أنواع الأسطونية الشعرية.

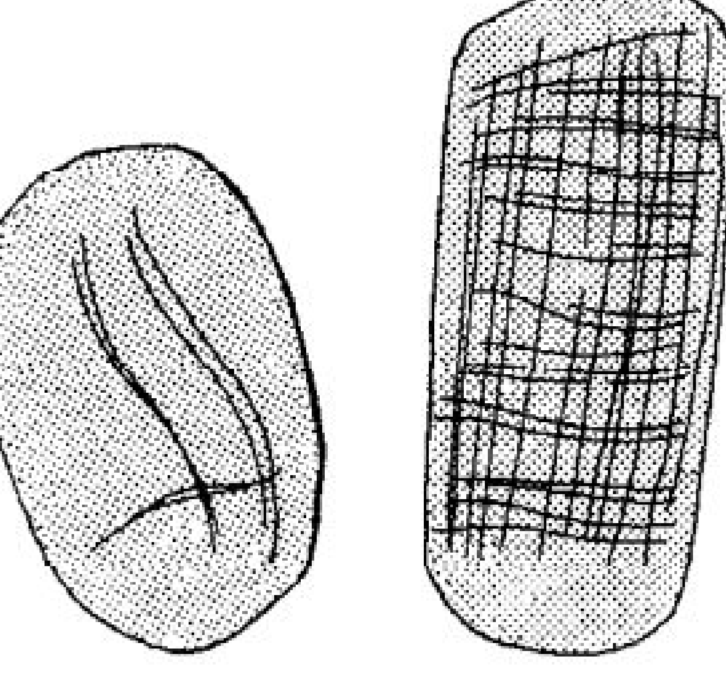


الشكل 84.4. بيوض المسلكة الشعرية الذيل.



الشكل 85.4. حبيبات النشا من النباتات.

هذه الحبيبات هي فضلات الأطعمة النشوية كالبطاطا والبقول واليام والمَنيهوت (الكَسَافة).


الشكل 86.4. ألياف اللحم المهضومة.

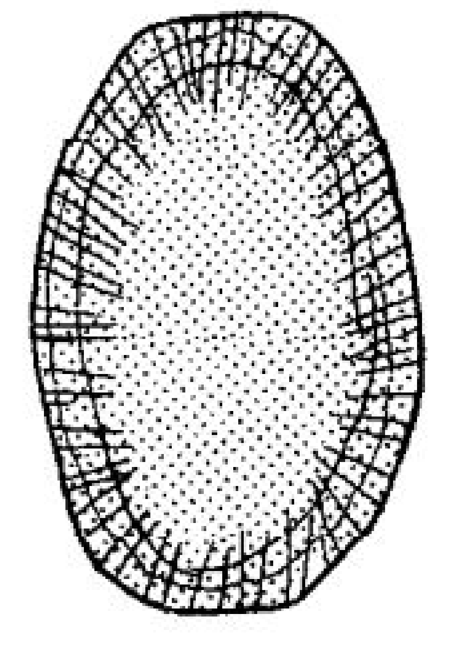
الألياف اللحمية المهضومة (الشكل 86.4)

الحجم: 100–200 مكم.

الشكل: بيضاوية أو مستطيلة ذات زوايا مدورة.

المحتوى: شفافة من دون حبيبات وخطوط (أو قد تكون هنالك خطوط متبقية إذا لم يكن اللحم قد هُضِم جيداً).

اللون: صفراء.


الشكل 87.4. الصابون.

الصوابين (الشكل 87.4)

الحجم: 20–100 مكم.

الشكل: مدورة أو بيضاوية أو غير منتظمة (كقشرة جذع شجرة).

المحتوى: خطوط تتشعع من المركز وتُرى قرب الحافة، ولا يوجد شيء في المركز.

اللون: أصفر بني أو عديمة اللون.

فقاقيع الهواء وقُطَيرات الزيت (الشكلان 88.4 و 89.4)

الحجم: مختلف (يمكن أن تكون بأي حجم).

الشكل: مدور تماماً.

القشرة الكاذبة: حلقة دائرية لامعة جداً (أو عدة طبقات في حالة الزيت).

المحتوى: لا شيء.

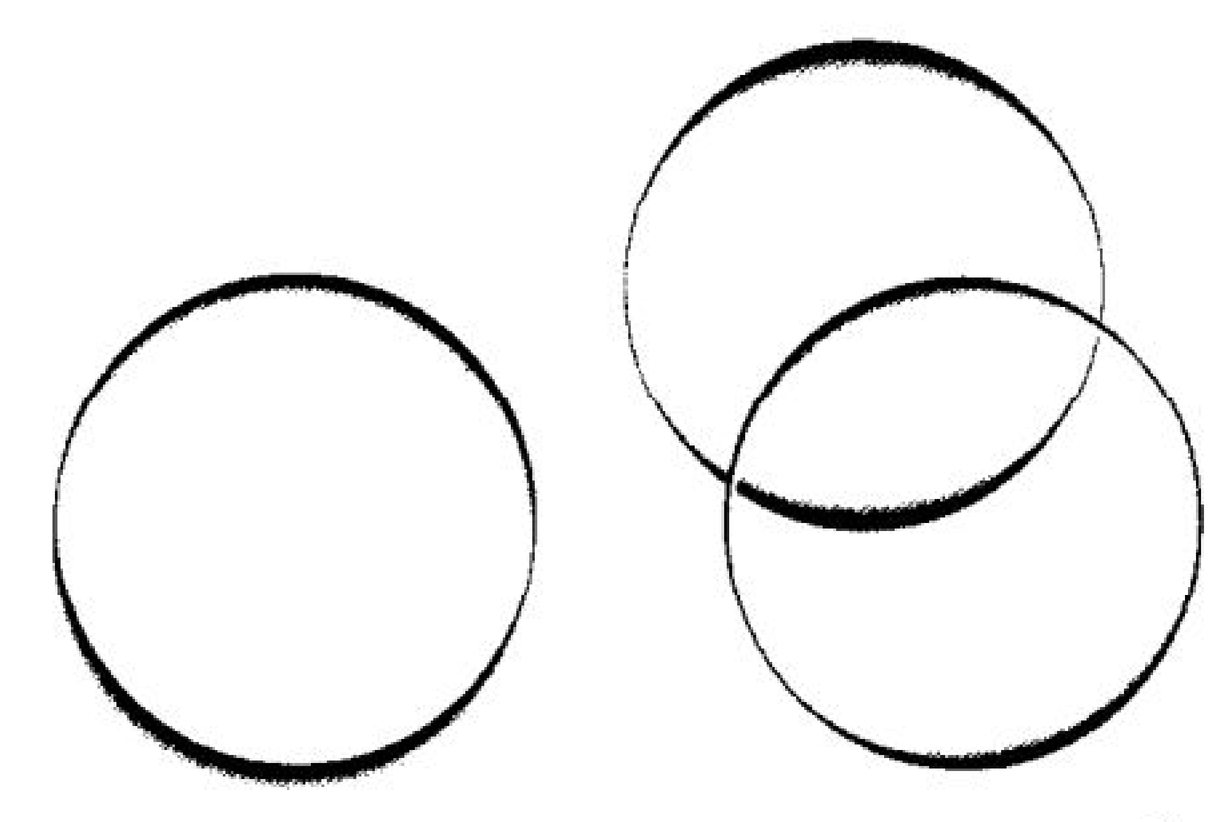
الأشعار النباتية (الشكل 90.4)

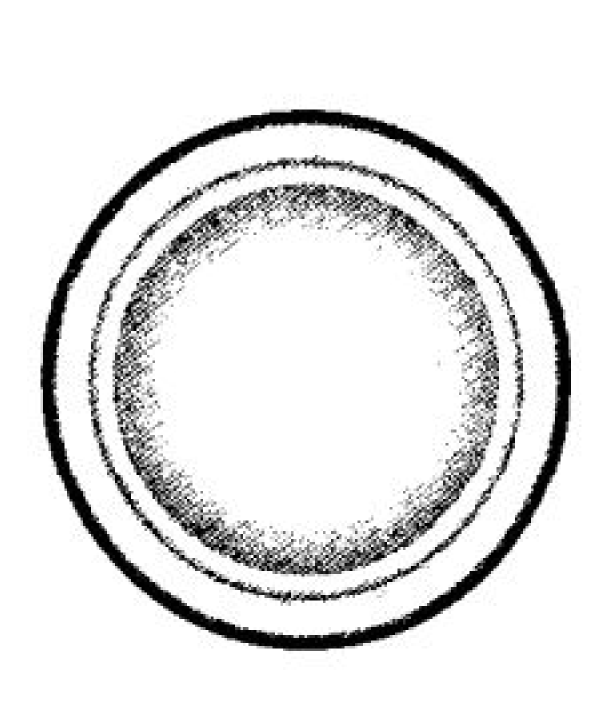
الحجم: مختلف جداً (50–300 مكم).

الشكل: أميل للقساوة، ومنحنية غالباً، وهي عريضة ومقطوعة قطعاً واضحاً في إحدى نهايتيها ومستدقة في النهاية الأخرى.

المحتوى: قناة مركزية ضيقة فارغة بين طبقتين شفافتين كاسرتين.

اللون: أصفر شاحب.


الشكل 88.4. فقاقيع الهواء.


الشكل 89.4. قطيرات الزيت.

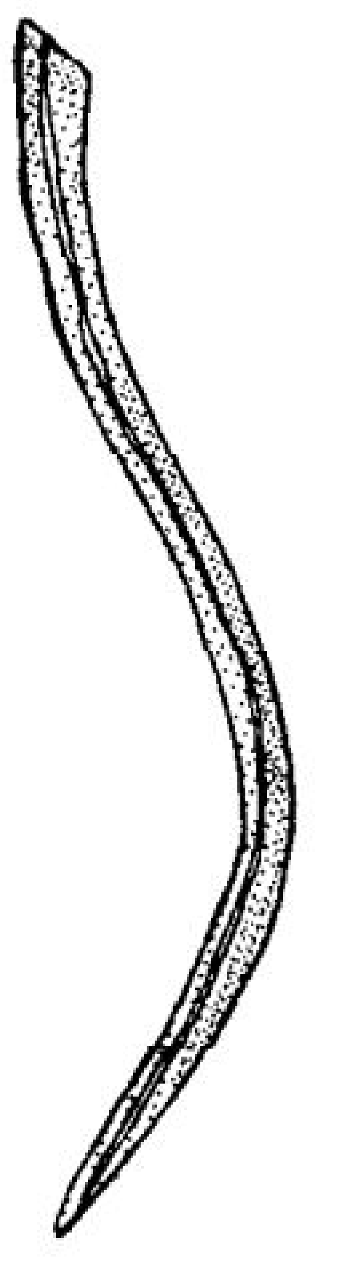
حبات الطلع وأبواغ الفُطريات (الشكل 91.4)

الحجم: تتفاوت كثيراً تبعاً للمنطقة الجغرافية والقوت المحلي.

الشكل: أشكال هندسية متميزة.

الملامح الأخرى: بوارز مميزة منشارية الشكل أو مدورة، الخ...

تساعد الملامح السابقة في تمييز حبات الطلع وأبواغ الفُطريات عن بيوض الطفيليات.



الشكل 90.4. أشعار نباتية.

2.4.4 استعراف الديدان الكهلة

إن الديدان الكهلة التي تُجْلَب إلى المختبر لاستعرافها (تعيين هويتها) يمكن أن تكون قد وجدت في البراز أو في الملابس أو في بياضات السرير أو في أثناء إجراء عملية جراحية.

وما نفحصه هو:

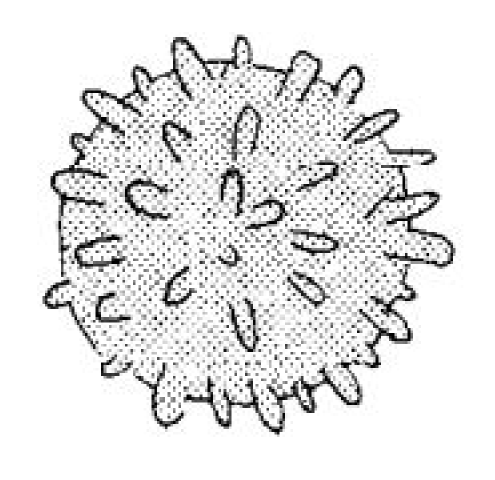
- طولها.
- شكلها.
- ما إذا كانت مسطحة أو مجزأة إلى قطع أو لا.
- ما إذا كانت أسطوانية (مدورة) أم لا.
- بنيتها الداخلية.

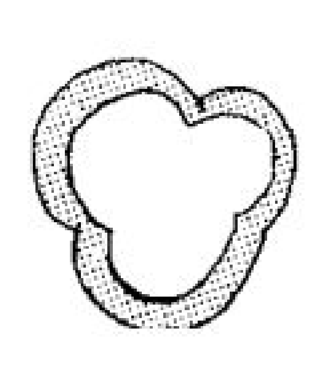
الديدان الشائعة

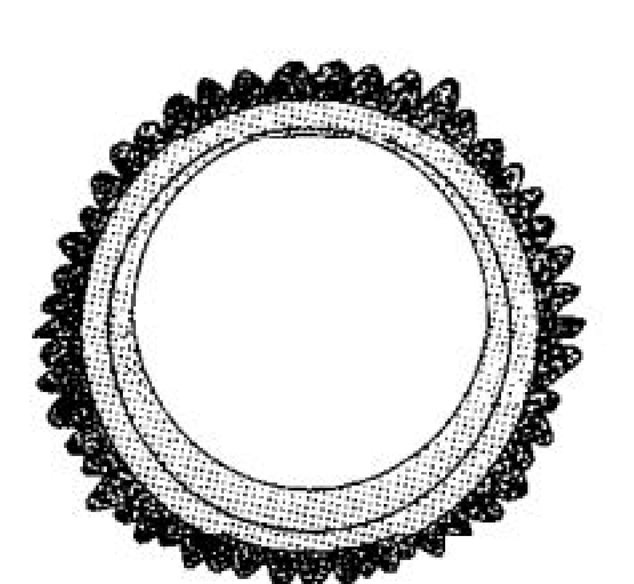
الصَّفَر الخَراطيني (الدودة المدورة، الأسكاريس) (الشكل 92.4)

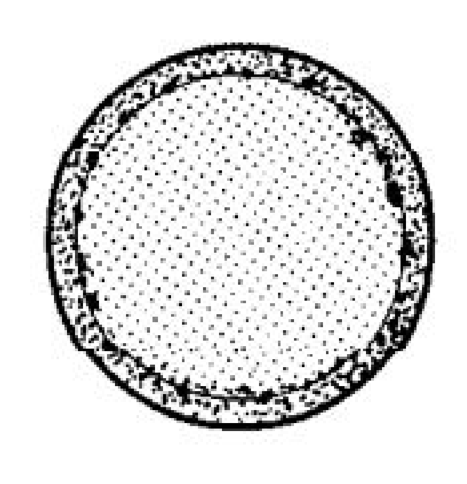
الطول: الذكر حوالي 15 سم مع ذيل معقوف؛ الأنثى 20–25 سم مع ذيل مستقيم.

اللون: وردية اللون.









الشكل 91.4. حبات الطلع وأبواغ الفُطريات.

الشُّرْمِيَّة الدُّوَيْدِيَّة (الدودة الدبوسية أو الدودة الخيطية أو الأقصور) (الشكل 93.4)

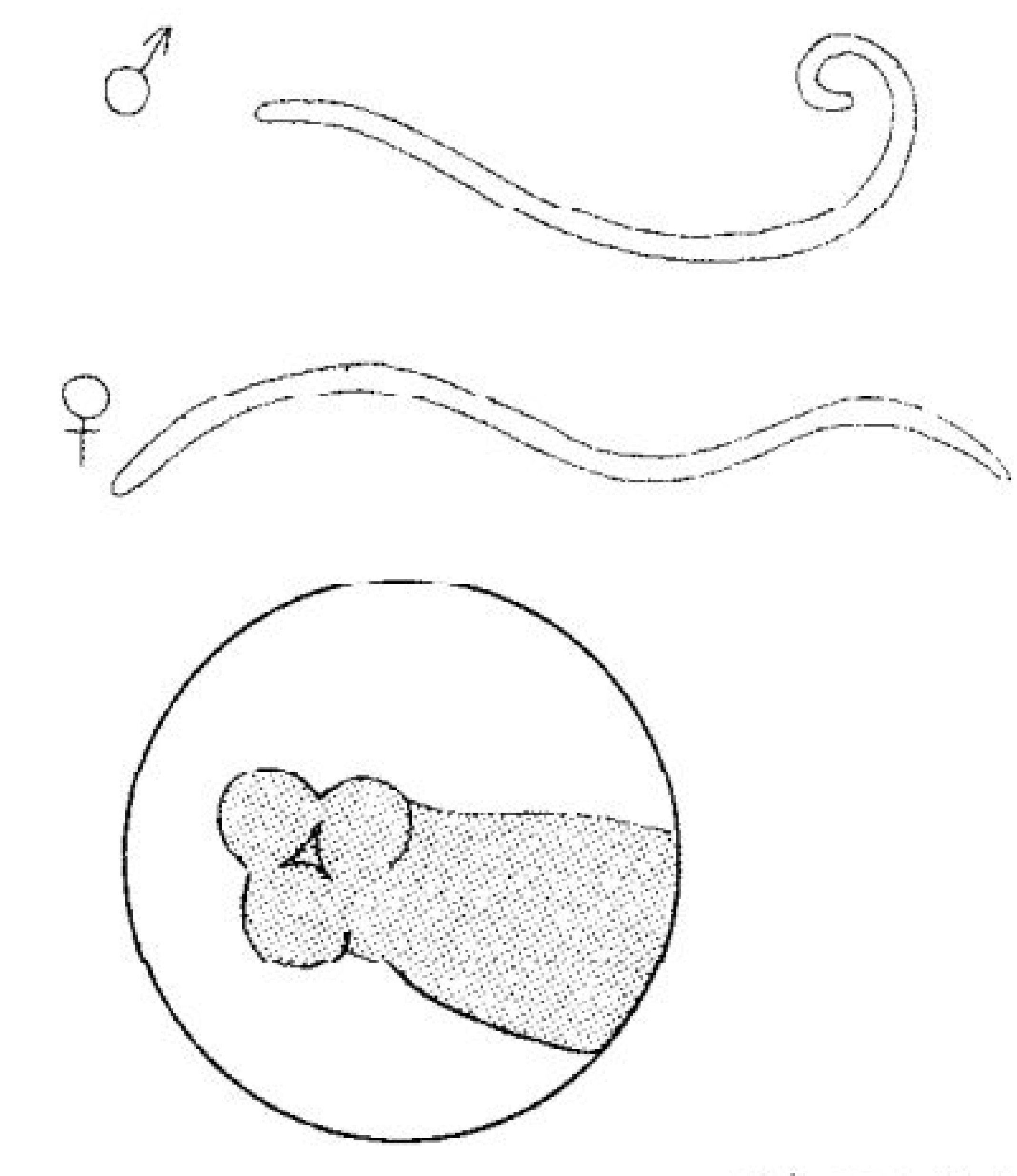
الطول: الذكر: 0.5 سم؛ الأنثى 1 سم مع ذيل مؤنف جداً (الذكور أقل مصادفة).

اللون: أبيض.

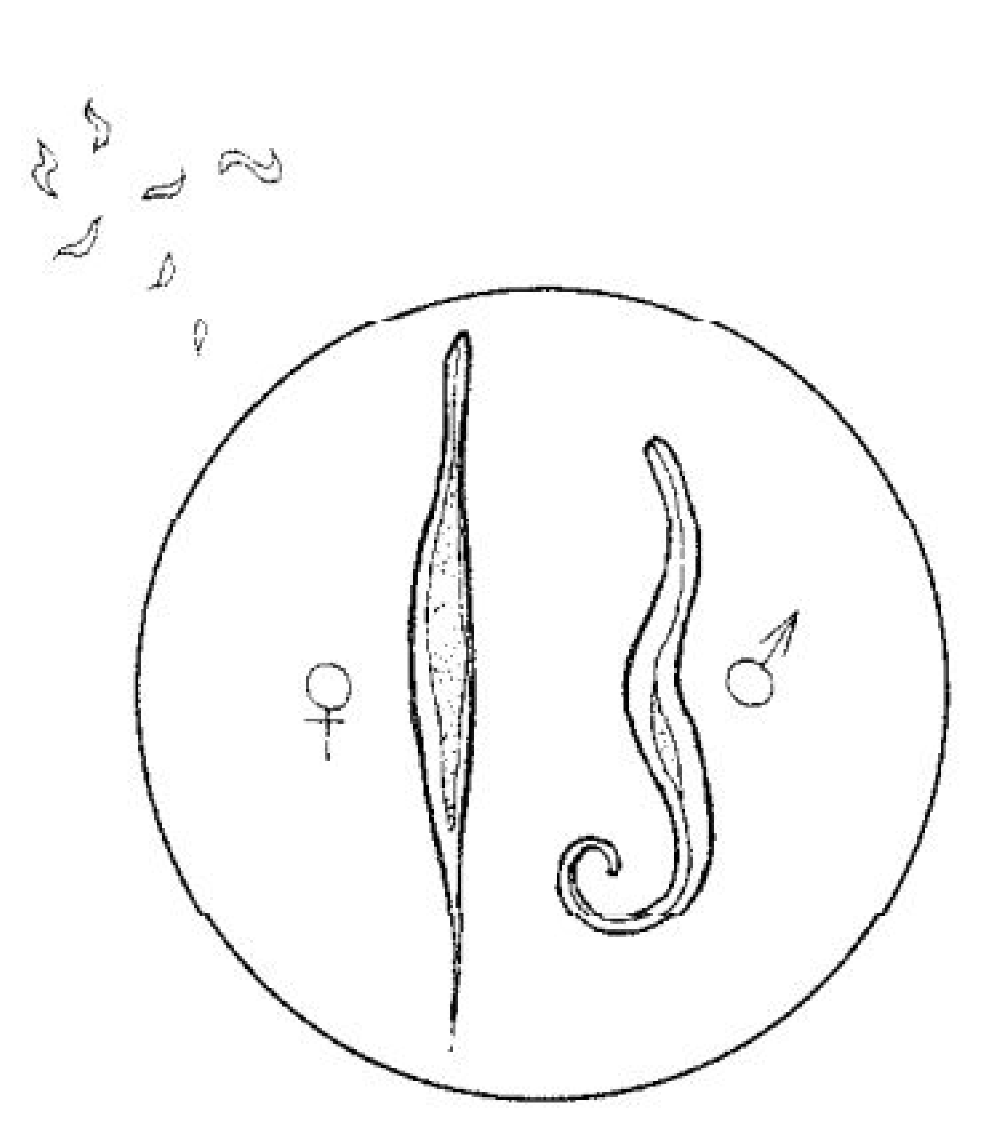
توجد السرميات بأعداد كبيرة وخصوصاً في براز الأطفال، وتكون متحركة. ويمكن كذلك أن توجد في ثنيات الجلد المحيطة بالشرج حيث يمكن أخذها بواسطة شريط لاصق من السيلوفان (الفقرة 1.4.4، ص 135).

الشريطية العزلاء (شريطية البقر) والشريطية الوحيدة (شريطية الخنزير)

الطول: للدودة الكاملة 3–10 م ولكن ما يُجلَب للفحص عادةً هو القطع الناضجة المفردة (1–3 سم طولاً) أو سلسلة من القطع (متفاوتة الطول).



الشكل 92.4. الأسكاريس (الصفر الخراطيني) (دودة بالغة).



الشكل 93.4. السرمية الدودية الكهلة.

اللون: أبيض عاجي (الشريطية العزلاء) أو أزرق شاحب (الشريطية الوحيدة).

ملاحظة هامة: إذا تأخر إجراء الفحص فإن القطع المنفصلة يمكن أن تجف وتلتف على نفسها فتبدو كالديدان المدورة، ولذلك ينبغي أن ترطب بالماء لتستعيد شكلها الأصلي.

الفحص

المواد والكواشف:

- مجهر أو مكبرة
- شرائح مجهرية
- أطباق بتري
- ملاقط.

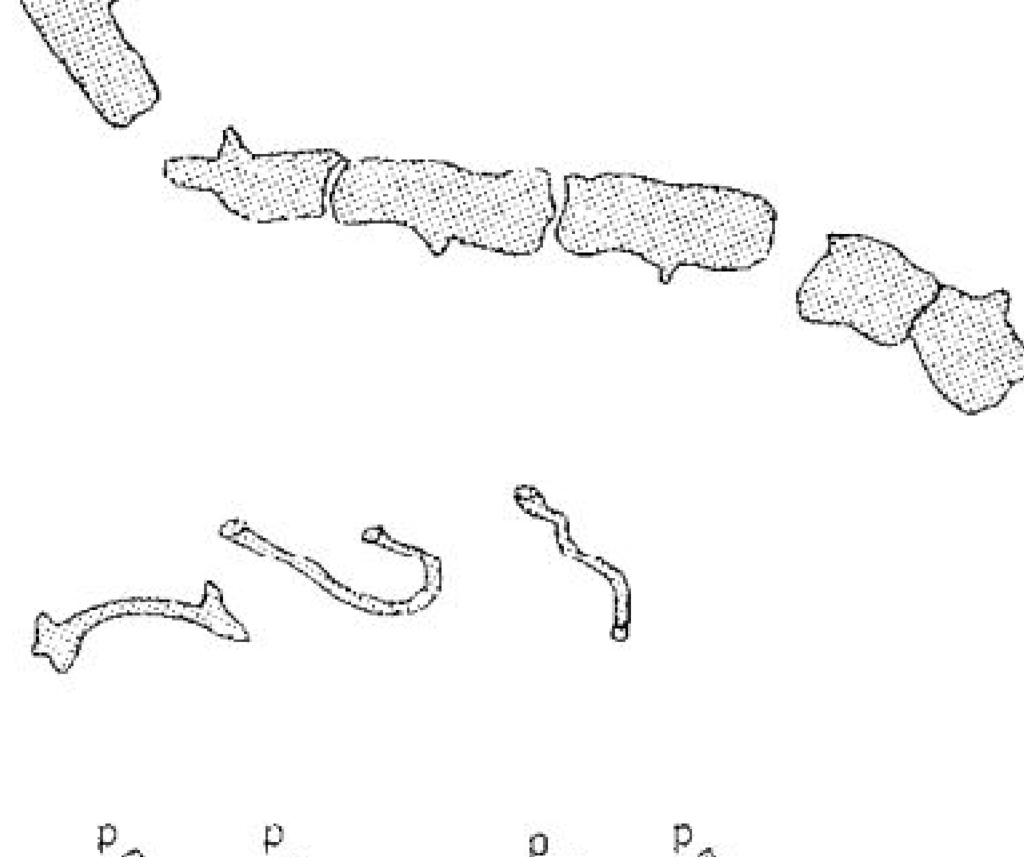
الطريقة

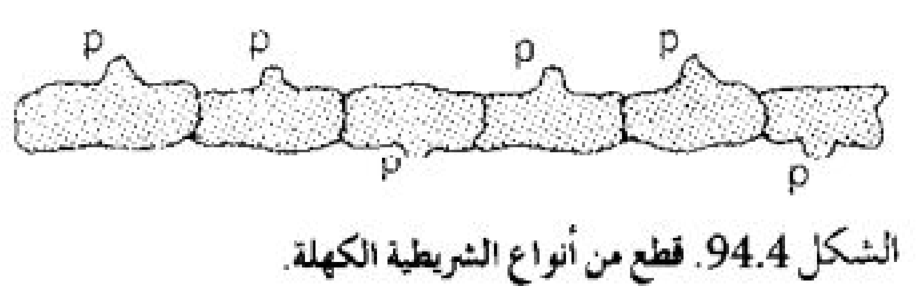
- تفحص سلسلة من القطع لملاحظة اصطفاف المَسامّ الجانسة (الشكل 94.4).
- تفحص قطعة مفردة مُبَسَّطَة بلطف بين شريحتين (الشكل 95.4).

تمسك الشريحة في مواجهة الضياء لملاحظة وتعداد الفروع الرحمية بالعين المجردة.

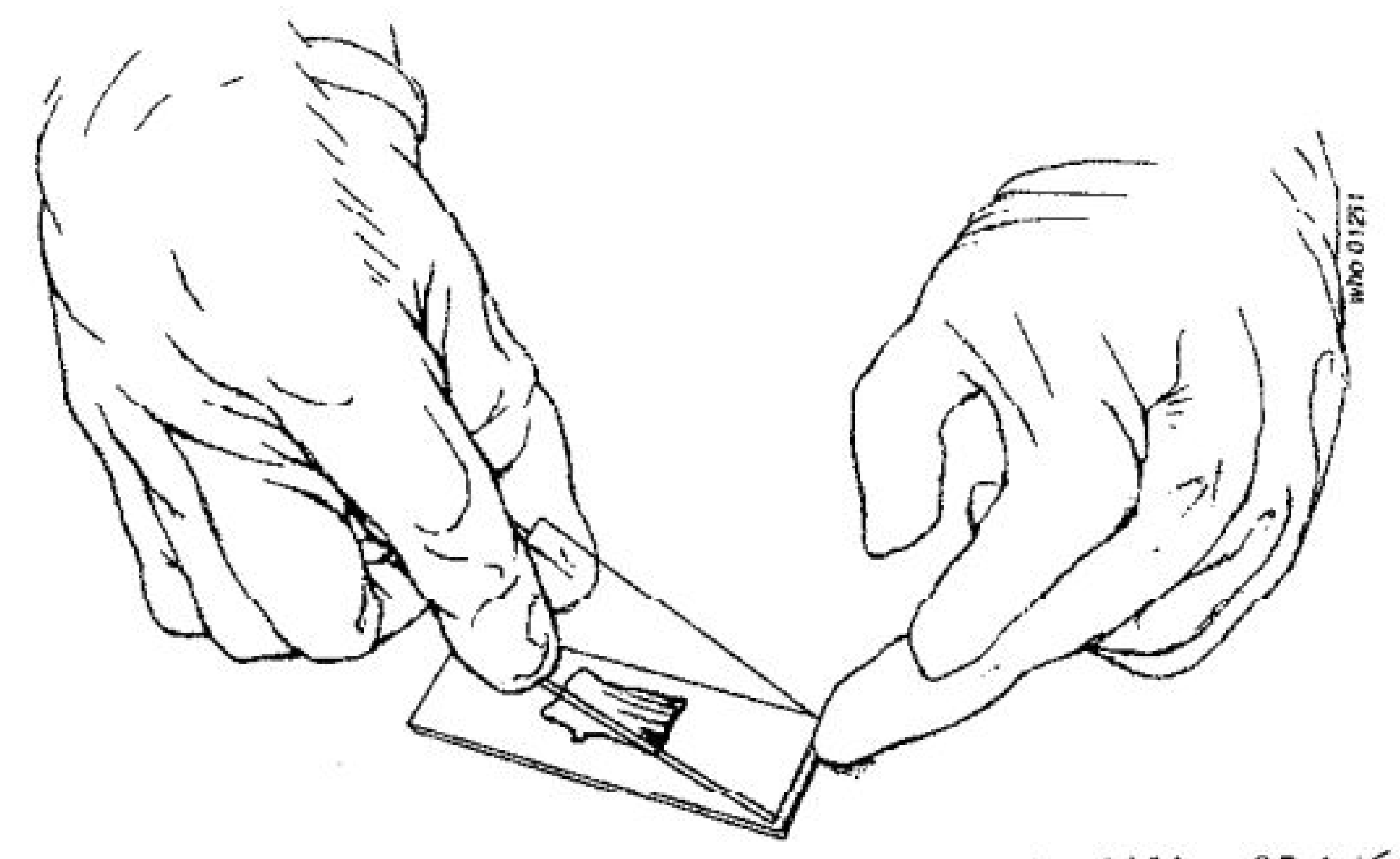
لفحص رأس الدودة (الرائِس scolex):

1. توضع الدودة الكاملة في علبة بتري (أو في صينية) مملوءة بالماء.
2. باستعمال الملقط تنقل الدودة شيئاً فشيئاً إلى علبة أخرى (الشكل 96.4)، بدءاً بالنهاية الثخينة.
3. إذا كُشِف في النهاية الدقيقة (العنق) انتفاخ بحجم رأس الدبوس، يفحص بواسطة العدسة المكبرة أو تحت المجهر بالشيئية 10×. (ولو أن الرأس نادراً ما يُكْشَف).

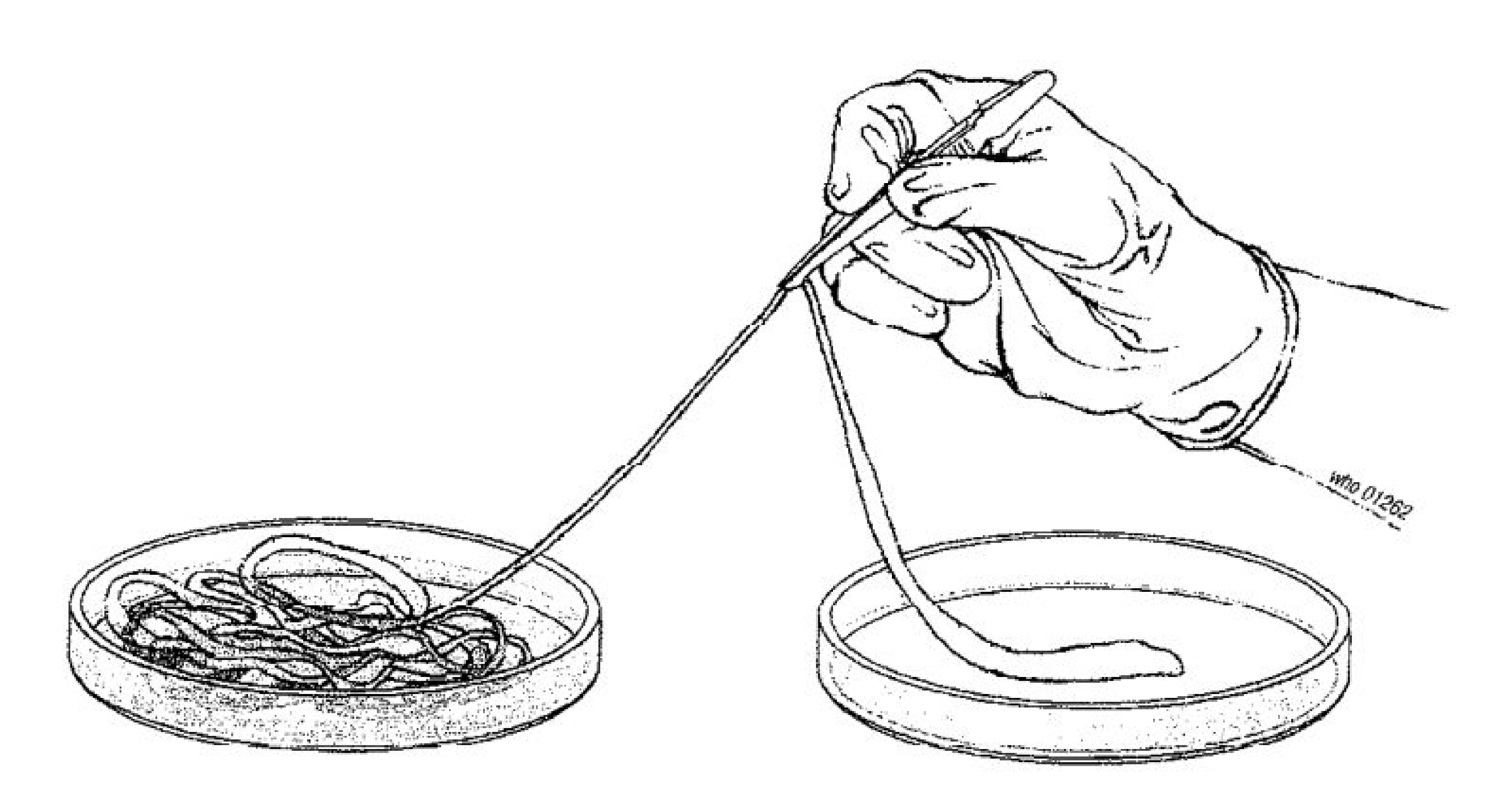




الشكل 94.4. قطع من أنواع الشريطية الكهلة.



الشكل 95.4. بسط قطعة بين شريحتين.



الشكل 96.4. استعمال الملقط لنقل دودة شريطية.

يبدي الشكل 97.4 كيفية التمييز بين الشريطية العزلاء والشريطية الوحيدة واثنتين من الشريطيات أقل شيوعاً هما المحرشفة القزمة وذات المنفذين الكلبية.

الديدان الأُخرى الموجودة في البراز

إن الديدان الموصوفة أدناه نادراً ما توجد في البراز، ومن ناحية أخرى فهي تُكْشَف أحياناً في بعض أعضاء المريض في أثناء إجراء عملية جراحية. أما المثقوبات flukes فيمكن أن ترى في الكبد أو الأمعاء، كما تُلاحظ الكيسات العُدارِيَّة hydatid في الكبد أو الرئتين.

الأنكيلوستوما الإثنا عشرية (الملقوة العفجية) والفتاكة الأمريكية (الدودة الشصية) (الشكل 98.4)

دودة مدورة صغيرة (كقطعة من خيط) تشابه السرمية الدويدية (انظر الشكل 93.4).

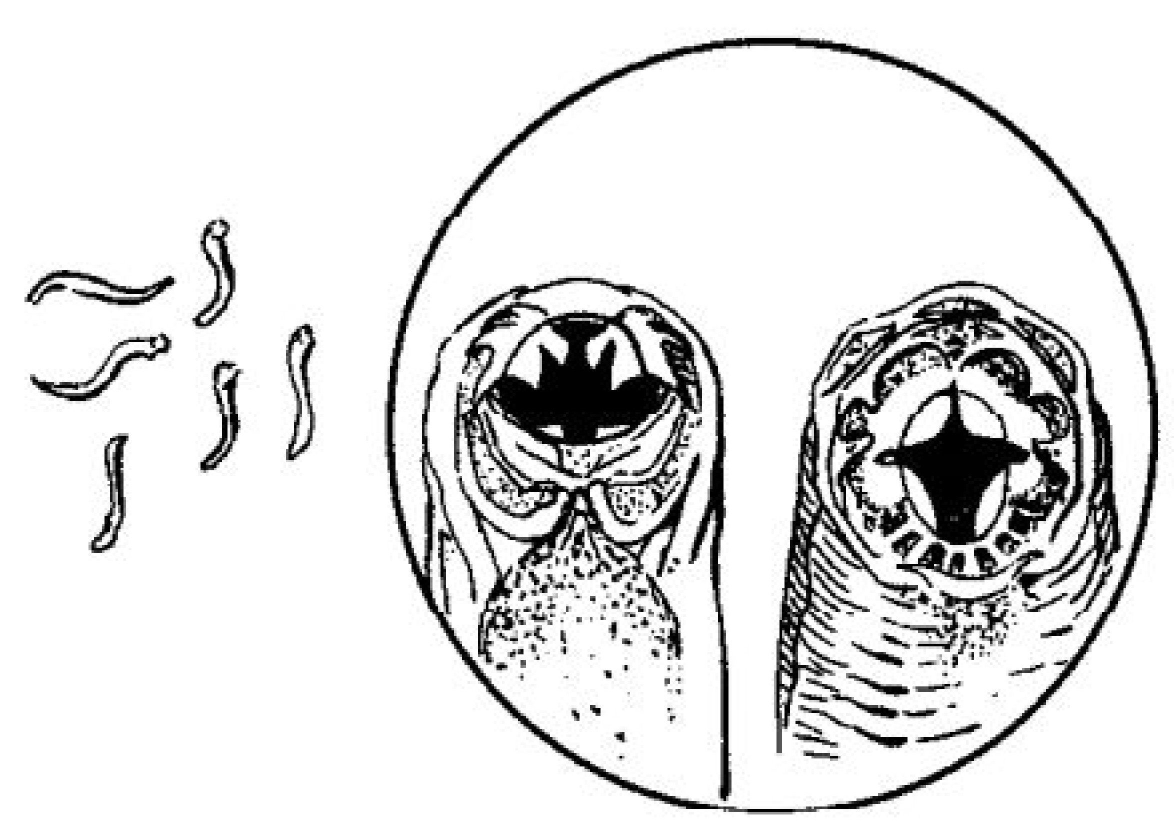
الطول: 1.0–1.5 سم.

اللون: بيضاء، أو حمراء إذا كانت تحتوي على دم.

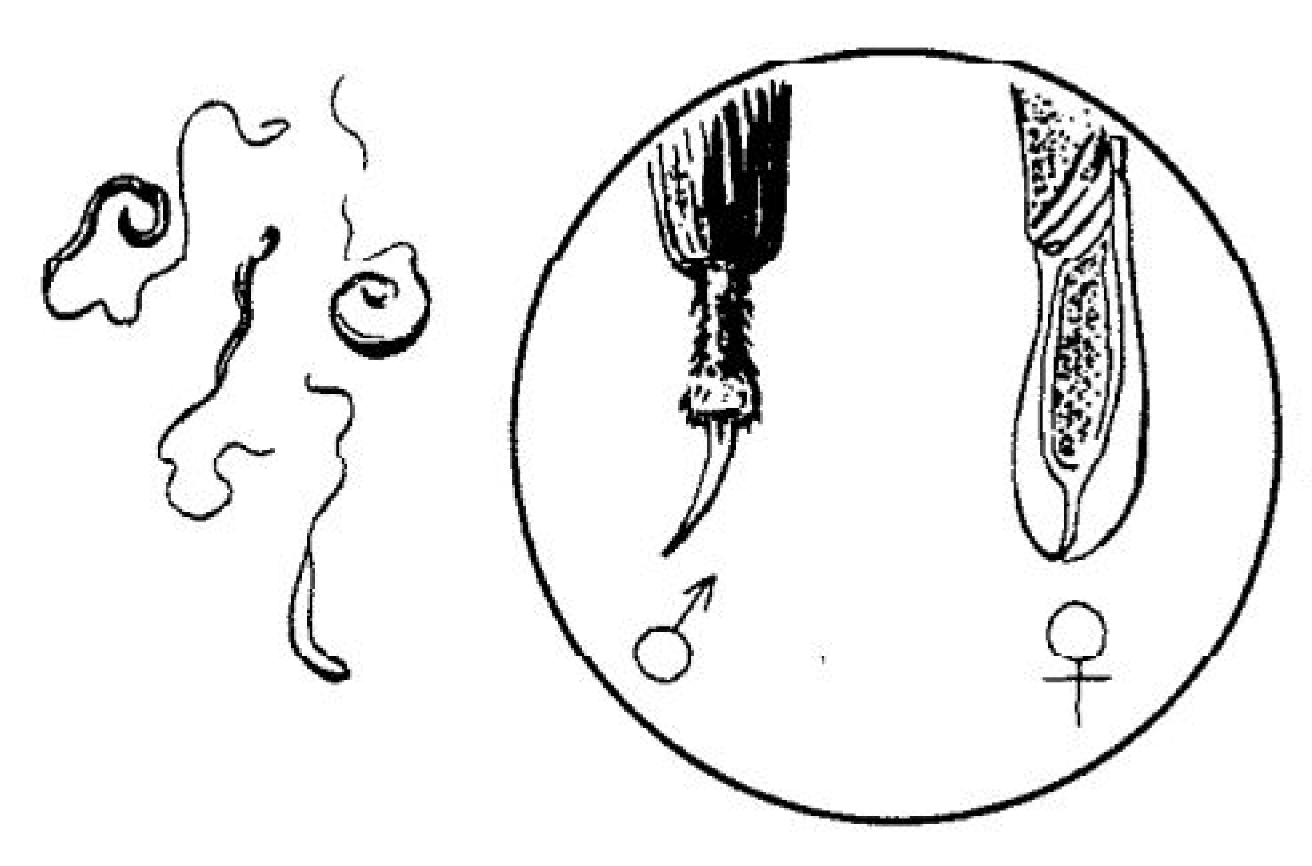
يفحص الرائس scolex تحت المجهر بالشيئية 10×.

الأقل شيوعاً			الأكثر شيوعاً
ذات المنفذين الكلبية	المحرشفة القزمة	الشريطة الوحيدة	الشريطة العزلاء
الطول الكامل 5–30 سم	الطول الكامل 2–4 سم	الطول الكامل 3–10 م ، ولكن سلاسل قصيرة من 3–4 قطع تخرج مع البراز	الطول الكامل 3–10 م ، ولكن تخرج قطع مفردة مستطيلة من الشرج بشكل مستقل عن البراز وتوجد في الثياب الداخلية و السرير
مسمان على الطرفين المتقابلين من كل قطعة	المسا م كلها على نفس الجانب	المسام مرتبة بشكل عام في تناوب منتظم	المسامات مرتبة بتناوب غير منتظم
قطع محمرة بطول 0.3 – 0.5 سم.	قطع بيضاء عاجية بطول 0.1 سم .	قطع زرقاء شاحبة بطول 0.5– 1.5 سم.	قطع بيضاء عاجية بطول 1–2 سم .
مجموعتان من الفروع الرحمية.	الفروع الرحمية صعبة الرؤيا.	حوالي 10 فروع رحمية.	حوالي 20 فرع رحمي
4 تيجان خارجية من الشصوص، كل منها له 4 محاجم (بقطر 0.5 م).	تاج واحد منغلف من الشصوص مع 4 محاجم (بقطر 0.5 م).	تاجان من الشصوص مع 4 محاجم لكل منهما (بقطر 1م).	4 محاجم (بقطر 2م) وعنق نحيل جداً .

الشكل 97.4. **استعراف الشريطيات.**



الشكل 98.4. الأنكيلوستوما الإثنا عشرية والفتاكة الأميركية الكهلة.



الشكل 99.4. المسلكة الشعرية الذيل الكهلة.

المسلكة الشعرية الذيل (الشَّوْطاء whipworm) (الشكل 99.4)

دودة صغيرة رقيقة تعيش في جدار الأعور أو -أحياناً- في المستقيم.

الطول. 3-5 سم.

اللون: بيضاء.

المثقوبات Flukes (الشكل 100.4)

دودة مسطحة ذات مِحْجَمَيْن suckers، وتشبه الورقة في شكلها.

المثقوبة الكبيرة

الطول: 2-3 سم.

العرض: عريضة نوعاً ما.

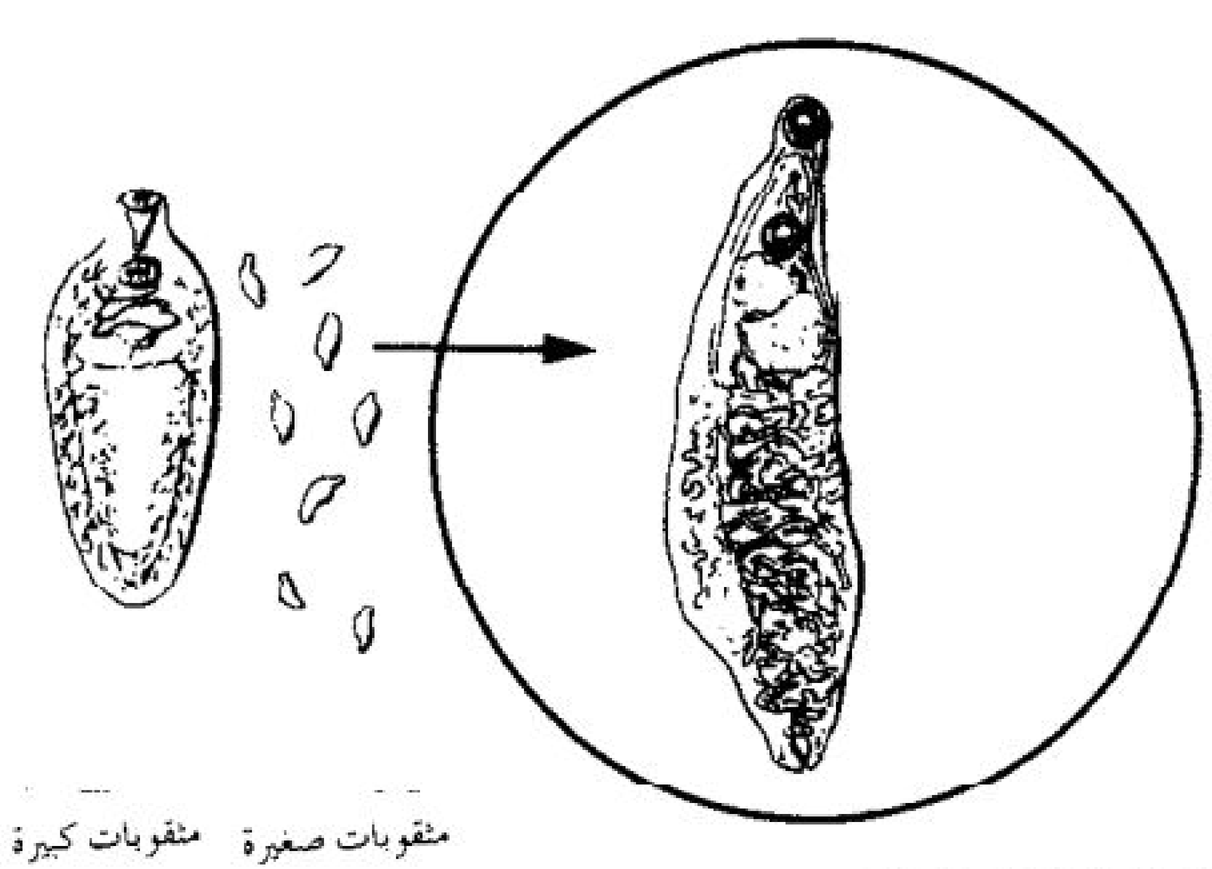
اللون: حمراء بنية أو بيضاء باهتة.

المثقوبة الصغيرة

الطول: 0.5-1 سم.

العرض: ضيقة.

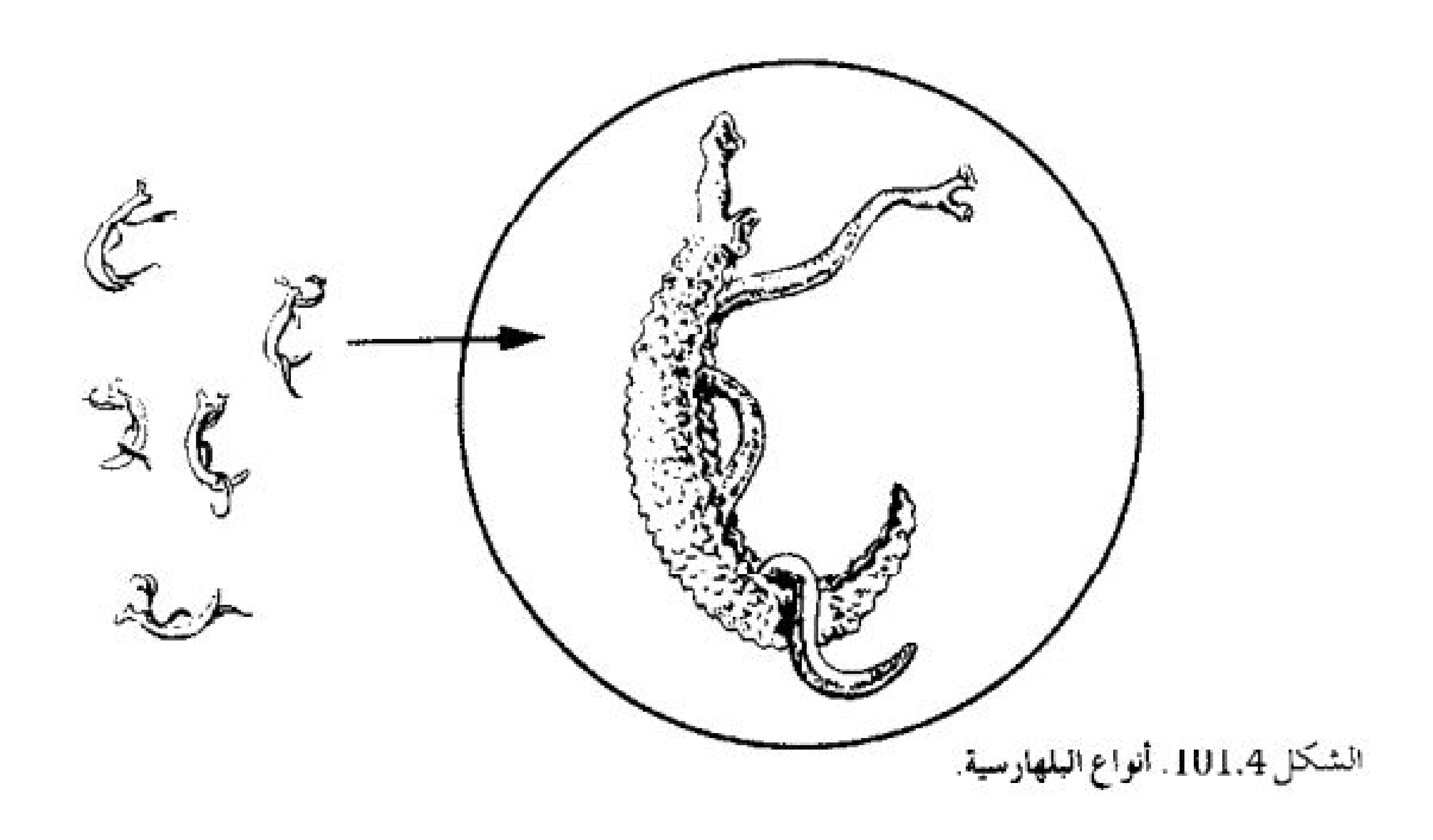
اللون: شفافة وبلون أحمر رمادي.



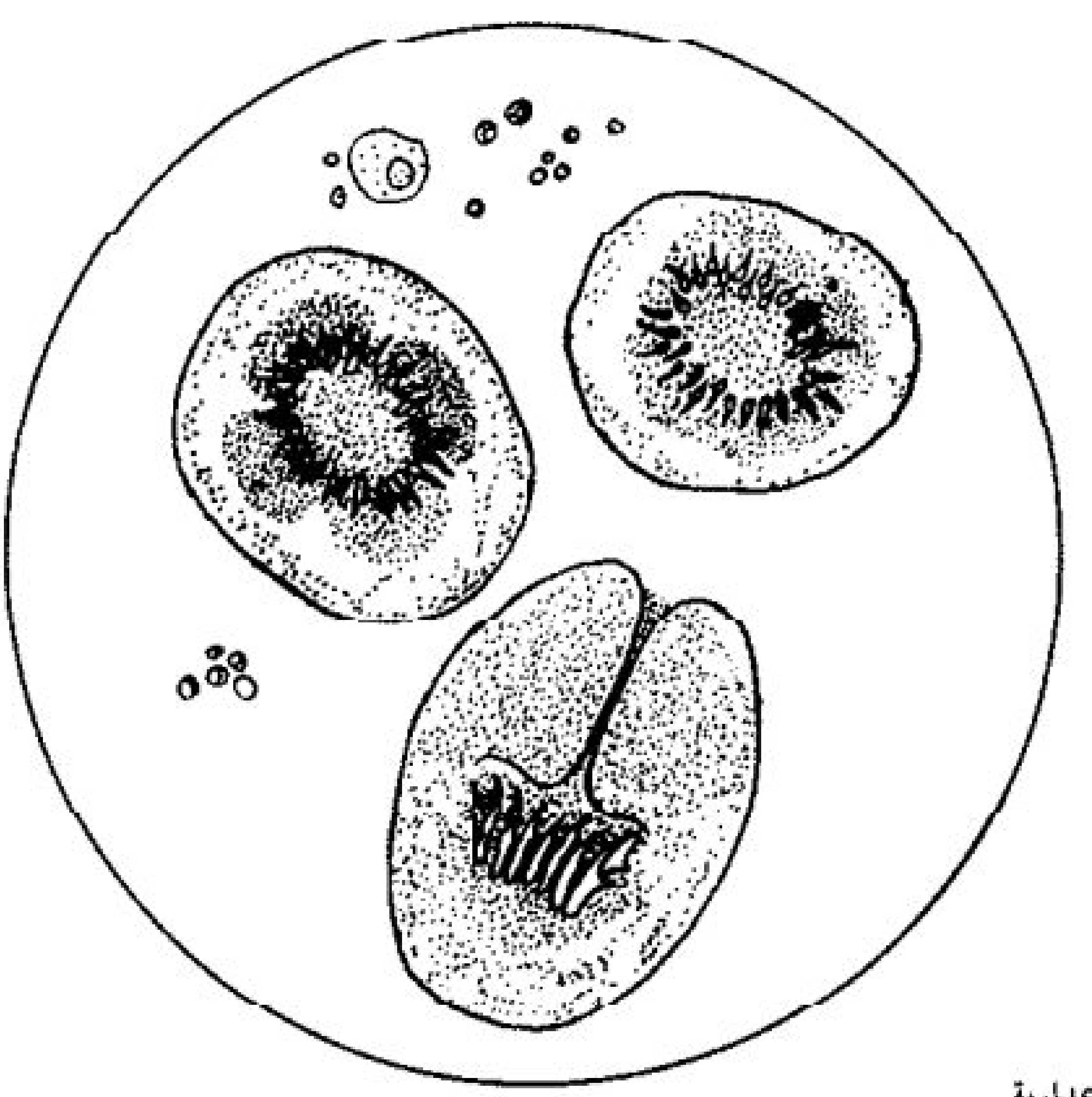
الشكل 100.4. المثقوبات.

أنواع البلهارسية (المثقوبات الدموية) (الشكل 101.4)

دودة مسطحة صغيرة رقيقة.



الشكل 101.4. أنواع البلهارسية.



الشكل 102.4. كيسة عدارية.

الطول: 0.5–1.5 سم.

اللون: أبيض.

الذكر المسطح يلتف حول الأنثى الخيطية –التي تكون أطول منه قليلاً– ويَحْتَضِنُها. ويكون لكل من الذكر والأنثى محجمان بالقرب من الرأس

المُشَوكَة الحُبيبية Echinococcus granulosus (الكيسة العدارية Hydatid cyst)

توجد ديدان المشوكة الحبيبية في الكلاب، ويمكن أن يصبح البشر مصابين بالعدوى بالتناول العارض للبيوض التي تتطور بعد ذلك إلى كيسات عُدارِيَّة hydatid cysts في الكبد أو الرئتين (الشكل 102.4):

الحجم: حوالي 150 مكم.

الشكل: مدور غير منتظم أو بيضاوي ويكون أحد القطبين مبسطاً قليلاً.

المحتوى: حبيبات دقيقة مع حلقة متميزة مكونة من 10–30 شَصّاً.

اللون: عديمة اللون وشفافة.

يحدث الداء العداري في المناطق التي تربى فيها الأغنام مثل شرق وشمال إفريقيا وشبه الجزيرة العربية وأستراليا ونيوزيلندا وأمريكا الجنوبية.

العوساء العريضة (شريطية السمك)

توجد العوساء العريضة بشكل رئيسي في الأقاليم الباردة؛ وتحصل العدوى من خلال تناول السمك النيئ أو المطبوخ بشكل غير كافٍ وتؤدي إلى انسداد الأمعاء وفقر الدم والألم وفقد الوزن.

5.4 طرائق تركيز الطفيليات

تستعمل طرائق تركيز الطفيليات عندما يكون عددُ بيوض أو يرقات الديدان أو كيسات الحيوانات الأوالي صغيراً؛ وقد وصفت 4 طرائق مختلفة للتركيز في هذا الكتاب:

- طريقة التعويم flotation باستعمال محلول كلوريد الصوديوم (ويلّيس).
- طريقة التثفيل بالفورمالدهيد–الأثير (آلن–ريدلي).
- طريقة التثفيل بالفورمالدهيد–مُنَظِّف.
- طريقة التثفيل من أجل يرقات الأسطوانية البرازية (هارادا ـ موري).

ملاحظة هامة: ينبغي دوماً إجراء فحص مجهري مباشر للبراز قبل إجراء التركيز (فالأشكال المتحركة للحيوانات الأوالي لا توجد في المحضرات المُرَكَّزة).

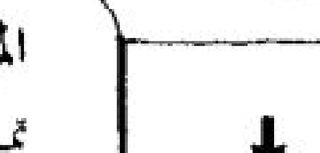
1.5.4 طريقة التعويم باستعمال محلول كلوريد الصوديوم (ويلّيس)

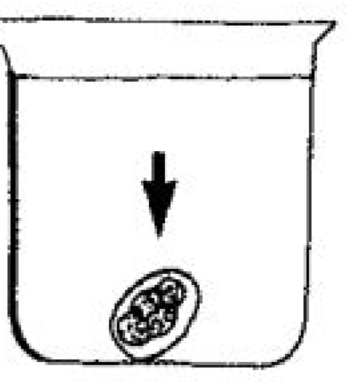
يوصى بها لكشف بيوض الأنكيلوسنوما الإثنا عشرية والفتاكة الأمريكية (الطريقة الأفضل)، والأسكاريس (الصفر الخراطيني)، والمحرشفة القزمة، وأنواع الشريطية، والمسلكة الشعرية الذيل.

وهذه الطريقة غير مناسبة لكشف بيوض المثقوبات وأنواع البلهارسية، ويرقات الأسطوانية البرازية، وكيسات أو أتاريف الحيوانات الأوالي.

المبدأ

تمزج عينة البراز بمحلول مشبع من كلوريد الصوديوم (مما يُزيد الثقل النوعي)، فتصبح البيوض أخف وزناً وتطفو على السطح حيث يمكن جمعها وأخذها (الشكل 103.4).





الشكل 103.4. مبدأ طريقة التعويم.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- قارورة واسعة الفوهة، 10 مل.
- عيدان خشبية.
- شاش.
- علبة بتري.
- إيثانول 95%.
- أثير.
- محلول ويلّيس (الكاشف رقم 64).
- هلام البترول (وادلين)
- شمع

الطريقة

تحضير ساترات خالية من الشحم

1. يُمزَج في مِخبار: 10 مل من الإيثانول 95% و10 مل من الأثير.
2. يُصَبّ المزيج في علبة بتري، ويوضع فيه 30 ساترة واحدةً فواحدة، ثم تُخضّ وتُترك 10 دقائق.
3. تُستَخرج الساترات واحدة فواحدة وتُجَفَّف كل منها بالشاش.
4. تحفظ في علبة بتري جافة.

إن الخطوات السابقة مُلَخَّصَة في الشكل 104.4.



الشكل 104.4. تحضير ساترات خالية من الشحم.

تركيز الطفيليات

1. يوضع 0.5 غ تقريباً من البراز في قارورة واسعة الفوهة، ويملأ 2.5مل من القارورة بمحلول ويليس.
2. يستعمل عود خشبي لهَرْس أخِيذَة البراز ومزجها جيداً بالمحلول، ثم تُملأ القارورة إلى شَفَتها بمحلول ويليس؛ وينبغي أن يكون المُعَلّق متجانساً تماماً.
3. توضع ساترة على فوهة القارورة بكل عناية.
4. يتم التحقق من أن الساترة مُماسَّة تماماً للسائل وأنه لا توجد فقاقيع هوائية بينهما، وتترك 10 دقائق.
5. ترفع الساترة بعناية وهي تحمل قطرة من السائل. توضع الساترة على شريحة، وتفحص بالمجهر على الفَوْر لأن المحضر يجف بسرعة بالغة وإلا فَتُختَم أطراف الساترة بالوَدَلين والشمع.

يستعمل لولب الإحكام الدقيق في المجهر لفحص كل شيء مرئي في الساحة (لأن البيوض تميل إلى الالتصاق بالساترة ولا تُمَيَّز لأول وهلة).

2.5.4 طريقة التثفيل بالفورمالدهيد-الأثير (آلن-ريدلي)

المبدأ

تعالج نماذج البراز بالفورمالدهيد الذي يحفظ كافة الطفيليات الموجودة. تزال البقايا الثقيلة بالترشيح. تفصل المواد الدسمة من معلق البراز بالاستخلاص بالاثير (أو اسيتات الاثيل) ثم ينبذ لتثفيل أي طفيلي موجود.

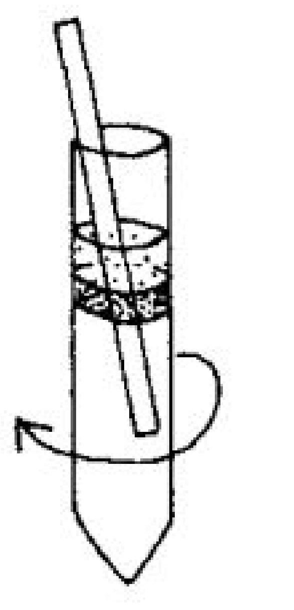
المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- منبذة
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- أنابيب تنبيذ
- عيدان خشبية
- مُرَشِّح filter سلكي من النحاس الأصفر، عين شبكته 40 (425 مكم)، قطره 7.2 سم (تؤمّن مصفاة
- القهوة المصنوعة من النيلون بديلاً رخيص الثمن)
- طبق صغير من الخزف (البورسلين) أو الفولاذ المقاوم للصدأ أو دورق
- ممص باستور

- محلول الفورمالين 10% (100 مل من الفورمالدهيد 37% في 900 مل من الماء المقطر).
- أثير (أو أسيتات الإيثيل).

الطريقة

1. يستعمل عود خشبي لأخذ مقدار صغير من البراز (0.5 غ تقريباً) من سطح وباطن نموذج البراز معاً.
2. توضع العينة في أنبوب تنبيذ يحتوي على 7 مل من الفورمالين 10%.
3. يُسْتَحْلَب البراز في الفورمالين ويُرَشَّح إلى داخل الطبق.
4. يُغسل المرشح (بالماء الصابوني) وتُرْمى البقايا المتكتلة.
5. تُنْقَل الرشاحة إلى أنبوب اختبار كبير، ثم يضاف 3 مل من الأثير (أو أسيتات الإيثيل).
6. يُسَدّ الأنبوب ويمزج جيداً.
7. يُنْقَل المعلق الناتج إلى أنبوب التنبيذ السابق ويُنَبَّذ بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة.
8. تُحَلْحَل السدادة الدهنية بواسطة عود خشبي ويصب السائل الطافي بعيداً بقلب الأنبوب بسرعة (الشكل 105.4).
9. يُترك السائل المتبقي على جوانب الأنبوب ليُسْتَنْضَب فوق الراسب، ويمزج جيداً، ثم تُنقل قطرة إلى شريحة وتغطى بساترة.
10. تستعمل الشيئيتان 10× و40× لفحص كامل الساترة لتحري البيوض والكيسات.



الشكل 105.4. بعد التنبيذ، إزالة السدادة الدهنية ورمي الطافي.

من الشائع الآن في الممارسة إجراء كل خطوات هذه الطريقة في مقصورة بيولوجية مأمونة، وإذا كانت جملة الاستخلاص للخزانة غير صامدة للنار فإنه يجب إجراء الخطوات التي تتضمن استعمال الأثير خارج الخزانة علماً أن أسيتات الإيثيل تؤمن بديلاً أقل قابلية للاشتعال من الأثير.

3.5.4 طريقة التثفيل بالفورمالدهيد–مُنَظِّف

المبدأ

إن طريقة التثفيل بالفورمالدهيد ـ مُنَظِّف هي طريقة تثفيل كمية بسيطة ورخيصة الثمن ومأمونة يُمْزَج فيها مقدار مَقِيْس من البراز في محلول منخفض الثقل النوعي للفورمالدهيد–منظف. يُنَخَّل المُعَلَّق ثم يُتْرَك دون بعثرة للسماح للبيوض بالتثفل تحت تأثير وزنها الخاص. "يُصَفِّي" المنظفَ الحُطامَ البرازي في زمن قصير، ويمكن استعمال منظف من أي نمط تجاري. يُستعمل إناء مخروطي القاع (مُزَوَّد مع العَتِيْدَة **kit**) لاحتواء المعلق والتثفيل، وبعد التثفيل والتصفية يُفحص المقدار الصغير المتشكل للثُّفالة الدقيقة بالمجهر لتحري البيوض، ويجري عدُّ البيوض لإعطاء نتيجة كمية.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- عتيدة kit اختبار تجارية تتألف من وعاء مخروطي القعر ووعاء تلوين بلاستيكي وممص باستور ودورق ومنظف تجاري يحل في الماء المقطر بنسبة 1: 50
- محلول الفورمالين 2% (100 مل من الفورمالدهيد 37% في 900 مل من الماء المقطر).

الطريقة

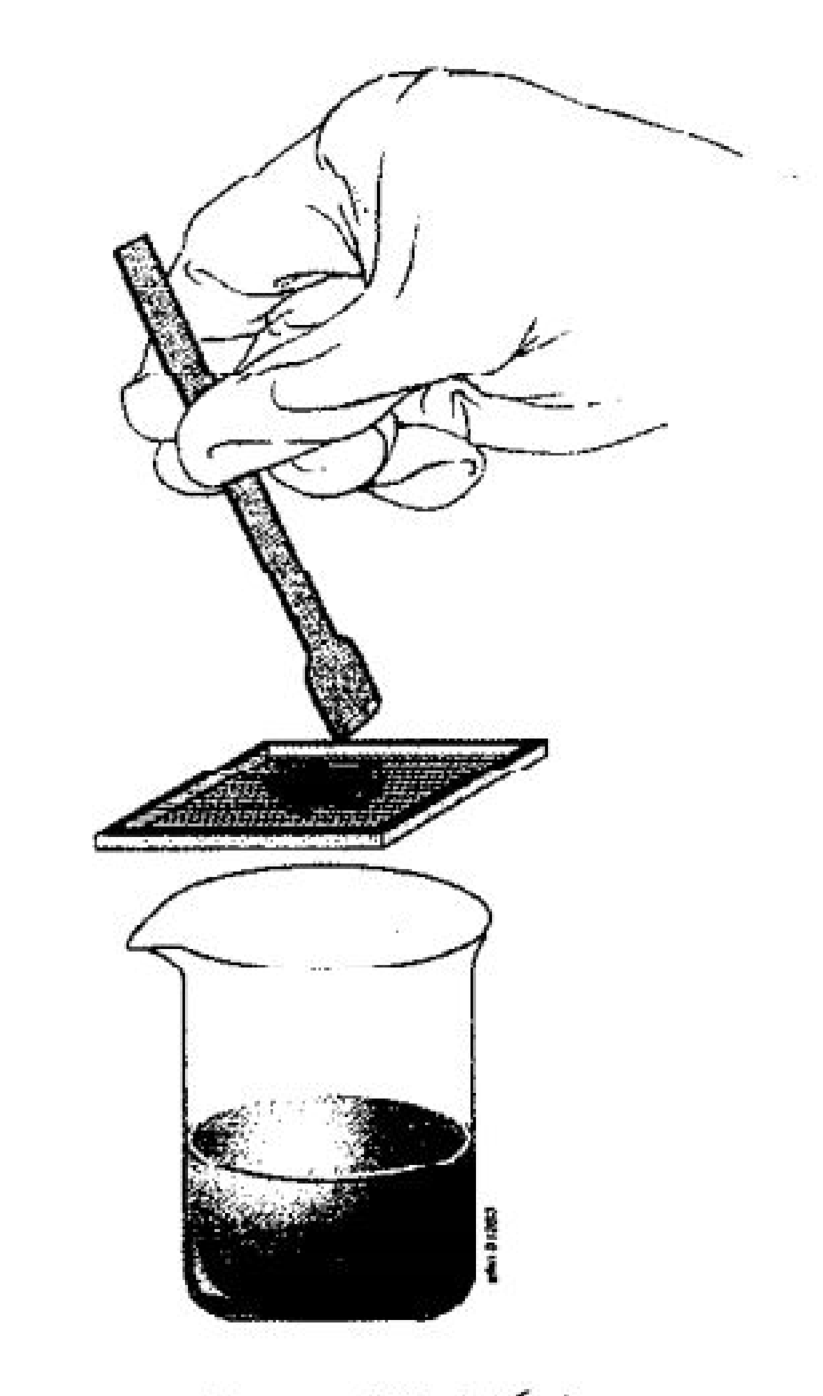
إن تفاصيل الطريقة المُزَوَّدَة مع العتيدة هي كما يلي:

1. يُملأ الإناء إلى العلامة 10 مل بمنظف 2% في الفورمالين 2%.

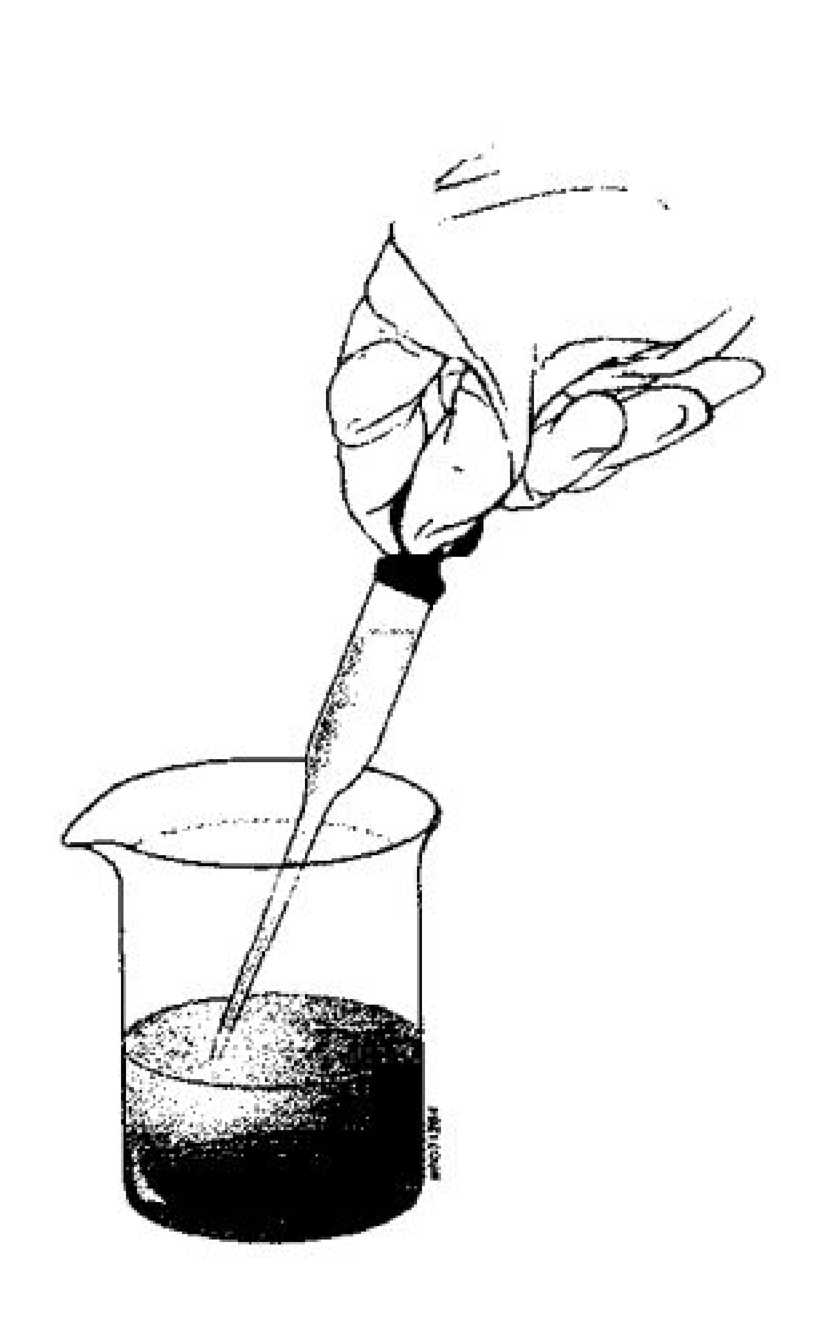
2. تُستعمل الملعقة المغروسة في غطاء الإناء لنقل 350 مغ تقريباً من البراز إلى الإناء وتُمزج هذه الكمية جيداً في محلول الفورمالدهيد-المُنَظِّف.
3. تَستعمل المِصْفاة البلاستيكية لتصفية المعلق إلى داخل الدورق المزود مع العتيدة (الشكل 106.4). يُشطف الإناء ثم توضع الرُشاحَة فيه.
4. يُترك الإناء قائماً في الحامل المزود وذلك لمدة ساعة واحدة (لا يُنبذ). يمكن في الحالات الميدانية نقل البراز المُسْتَحْلَب إلى المختبر من أجل فحصه، إذ تكون بيوض البلهارسية مُثَبَّتة وتبقى غير مشوهة.
5. يُرفع السائل الطافي بعناية ويرمى مع الحرص على عدم بعثرة الثُفالَة التي تشكلت في قاع الإناء (الشكل 107.4).
6. يضاف 10 مل من محلول الفورمالدهيد-المنظف، ويمزج ويترك ليتثفل لمدة ساعة أخرى، وبذلك ستحدث تصفية إضافية للحطام البرازي.
7. يُرفع السائل الطافي ويرمى مع ترك 0.5 مل تقريباً من الثفالة الدقيقة.
8. يُستعمل ممص باستور المزود لنقل الثفالة بكاملها إلى شريحة وتغطى بساترة 22 مم × 40 مم (مزودة مع العتيدة) (الشكل 108.4).
9. يُفحص المحضر بكامله بالمجهر باستعمال الشيئية 10× مع إغلاق قزحية المكثفة بشكل كافٍ لإعطاء تباين جيد.

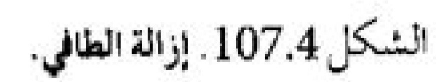
يجري عدُّ كل البيوض الموجودة ويُضرَب العدد بـ 3 لإعطاء العدد التقريبي/غ من البراز.

ملاحظة: إذا لم يُرفع السائل الطافي بعد ساعة واحدة وإنما بدلاً من ذلك أُضيف 10مل من الكاشف ومُزِج المعلق ثم تُرِك ليتثفل طوال الليل فإن بيوض وكيسات ويرقات الطفيليات الأخرى ستتثفل. إن هذه الطريقة ذات قيمة خاصة في المختبرات التي تفتقر لتسهيلات إجراء طريقة التثفيل بالفورمالدهيد-منظف. يحفظ الفورمالين الطفيليات دون تشويه شكلها.

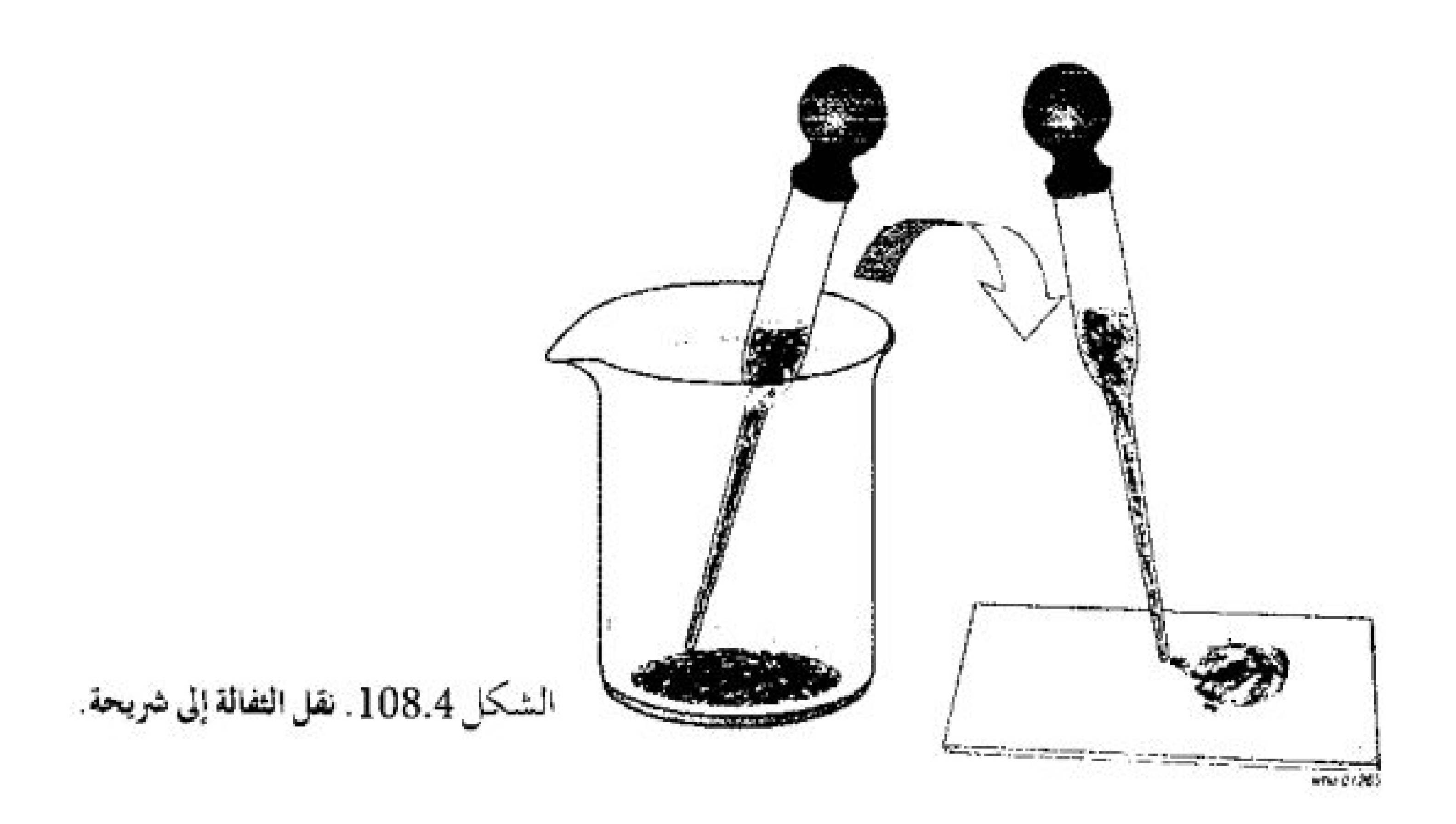


الشكل 106.4. تصفية المعلق.





الشكل 107.4. إزالة الطافي.



الشكل 108.4. نقل الثفالة إلى شريحة.

4.5.4 طريقة التنفيل من أجل يرقات الأسطوانية البرازية (هارادا ـ موري)

المبدأ

يُغَطَّس شريط من ورق الترشيح جزئياً في أنبوب اختبار يحتوي على الماء، وبذلك فإن أية يرقات للأسطوانية البرازية موجودة في النموذج تهاجر بعكس تيار الماء الذي يرتفع بفعل الخاصة الشعرية وتتراكم في قاع الأنبوب.

المواد والكواشف

- مجهر
- شريط سيلوفان
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- أشرطة من ورق الترشيح (30×150 مم)
- مِلْوَق
- محلول لوغول اليودي 0.5% (الكاشف رقم 37)

الطريقة

1. يستعمل الملوق لفرش كمية صغيرة من نموذج البراز على طول شريط ورق الترشيح (الذي ثُنِيَ من قَبْلُ على طوله للمحافظة عليه مستقيماً) ولكن تُتْرَكُ الأربع أو الخمس سنتيمترات الأخيرة نظيفةً لتُغْمَس في الماء.
2. يُغْمَس شريط ورق الترشيح من نهايته النظيفة في أنبوب اختبار يحتوي على ماء مرشح أو مغلي بعمق 2.5–3 سم، ويُثْنى الشريط من أعلاه بحيث لا يلمس أسفلُ الشريط قاعَ الأنبوب.
3. يُسجل الرقم المتسلسل أو اسم المريض ـ بحيث لا يمكن محوه ـ على الأنبوب.
4. يُسد الأنبوب بالقطن أو ـ وهو الأفضل ـ يُختم بشريط السيلوفان، ويحفظ لمدة ٧–8 أيام في حرارة المختبر.
5. يجري البحثُ عن اليرقات في قاع الأنبوب، فتلون بالمحلول اليودي ثم تفحص بالمجهر باستعمال الشيئية ×10.

إن اليرقات التي تُرى عادةً في نماذج البراز الطازج هي اليرقات الرَّبْدِيَّة (عصوية الشكل rhabditiform) (الدور الأول) للأسطوانية البرازية. بيد أنه إذا كان البراز قد مر عليه أكثر من 12 ساعة فيمكن لليرقات أن تَنْفَقِس عن اليرقات الخيطية الشكل filariform (الدور المُعْدي). وهذه الأخيرة يجب أن تميز من يرقات الأنكيلوستوما الإثنا عشرية والفتاكة الأمريكية (الدودة الشصية) التي يمكن أن تفقس أيضاً في البراز بعد مرور 12–24 ساعة. وإن ظهور اليرقات الخيطية الشكل للأسطوانية البرازية يمكن أن يدل على فرط

العدوى المجموعية.

يُرى المَنْشَــم (البُدْأة = الرَّديم) primordium التناسلي بوضـــوح أشد في المحضرات الملونة باليود إذ يقتل اليود اليرقات ويجعل الملامحَ أسهلَ رؤيةً، ومن الضروري استعمال الشيئية العالية التكبير لرؤية هذه البنى.

- إذا شوهدت يرقة ذات فتحة فموية قصيرة ومَنْشَم تناسلي بارز (مرئي بوضوح)، فهي الأسطوانية البرازية.
- إذا شوهدت يرقة ذات فتحة فموية طويلة و لم يشاهد منشم تناسلي، فهي الأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو الفتاكة الأمريكية.

إن الملامحَ الرئيســة لتمييز يرقات الأســطوانية البرازية من الأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو الفتاكة الأمريكية مُلَخَّصَةٌ في الجدول 6.4 وموضحة في الشكل 109.4.

6.4 الاختبار الكيميائي لتحري الدم الخفي في البراز

يستعمل الاختبار لتحري العدوى الطفيلية مثل داء البلهارسيات المعوي، وكشف النزف في الأمعاء والقولون الناجم عن السَّــلائِل أو الأورام أو الالتهاب. وقد تم تطوير الاختبار في الأصل باستعمال البنزيدين، ولكن لم يعد يوصى باستعمال البنزيدين إذ تبين أنه مُسَرْطِن.

ملاحظة: ينبغي للمريض في اليوم السابق للاختبار :

- أن لا يأكل أية لحوم؛
- أن لا يتناول أي دواء يحتوي على مركبات الحديد؛
- أن لا يُفَرْجِن (الفِرْجَوْن = الفِرْشاة) أسنانه بشدة.

1.6.4 المبدأ

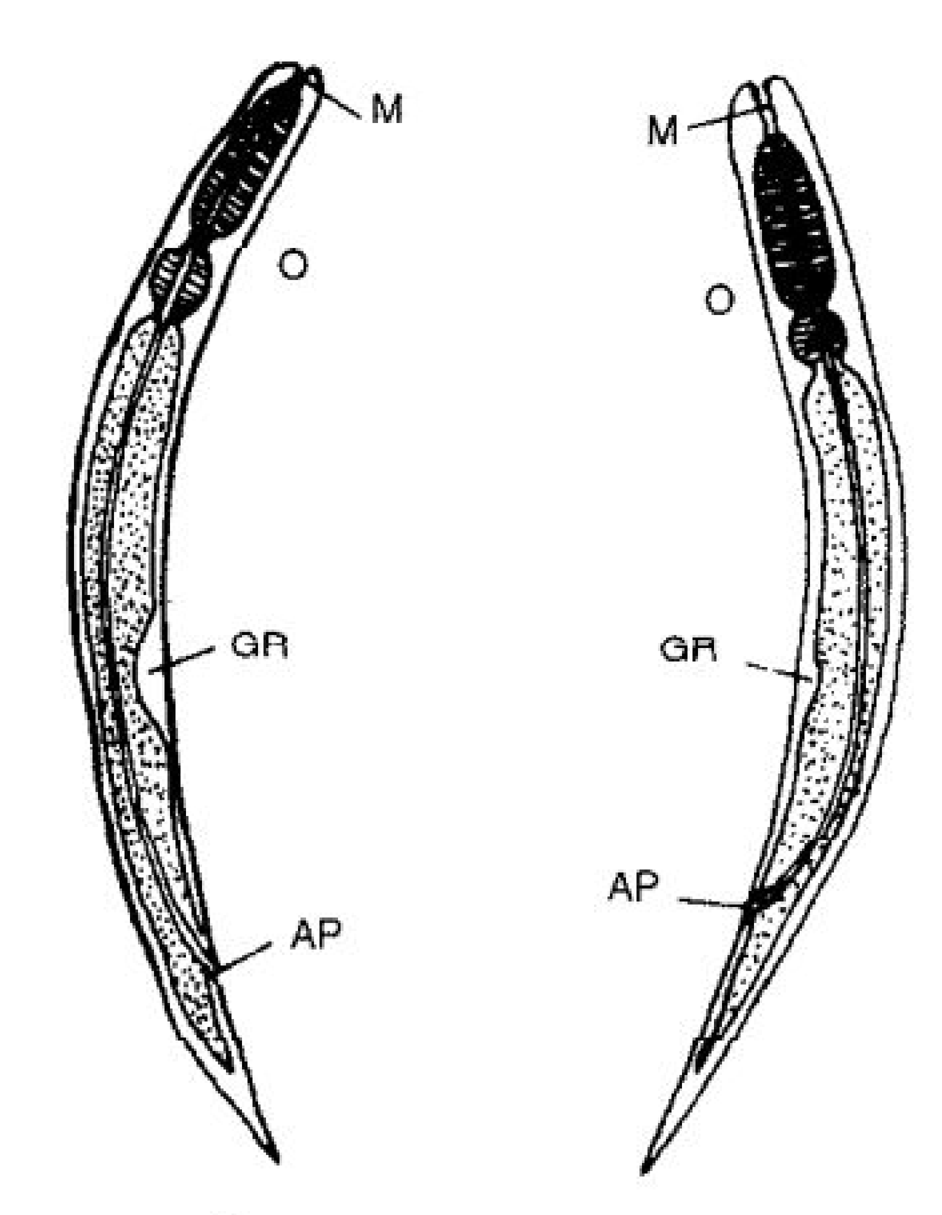
يَنْتُج الأكسيجين عندما يصبح الهيموغلوبين في الدم بتماس مع بيروكسيد الهيدروجين، ويتفاعل الأكسيجين المتحرر مع الأمينوبيرين (الأمينوفينازون) لإنتاج لون أزرق.

2.6.4 المواد والكواشف

- مِنْبَذة.
- أنابيب تنبيذ مخروطية.

الجدول 6.4 خصائص يرقات الأسطوانية البرازية والأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو الفتاكة الأمريكية

دور اليرقة	الأسطوانية البرازية	الأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو الفتاكة الأمريكية
عصوية الشكل	الجوف الفموي قصير (4 مكم)	الجوف الفموي طويل (15 مكم)
	المريء يشغل ثلث طول الجسم وله انتفاخان	المريء يشغل ثلث طول الجسم وله انتفاخان
	المَنْشَم (الرديم) التناسلي كبير (22 مكم)	المنشم التناسلي صغير (7 مكم)
	الثقبة الشرجية تَبْعُد عن النهاية الخلفية 50 مكم	الثقبة الشرجية تَبْعُد عن النهاية الخلفية 80 مكم
خيطية الشكل	الحجم: 200–500 مكم × 15–20 مكم	الحجم: 200–500 مكم × 14–20 مكم
	غير مغمدة	معمدة
	الذيل متشعب أو كليل	الذيل مستدق
	يشغل المريء نصف طول الجسم وليس له انتفاخ	يشغل المريء ثلث طول الجسم وليس له انتفاخ



الشكل 109.4. الملامح المفيدة لاستعراف يرقات الأسطوانية البرازية والأنكيلوستوما الإثنا عشرية أو الفتاكة الأميركية: M: الفم؛ O: المريء؛ GR: الرديم التناسلي؛ AP: الثقبة الشرجية.

- عيدان
- اسطوانة مدرجة سعة 20 مل
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- أنبوب شاهد إيجابي (يحتوي على محلول 1% من الدم في الماء)
- أنبوب شاهد سلبي (يحتوي على الماء المقطر)
- محلول حمض الأستمك 10% (الكاشف رقم 13)
- بيروكسيد الهيدروجين (محلول طازج 10%)
- إيثانول 95%
- أمينوبيرين، بلّوري.

ملاحظة: يجب أن تكون الزجاجيات المستعملة للاختبار نظيفةً ولا أثر للدم فيها (الفقرة 1.5.3).

3.6.4 الطريقة

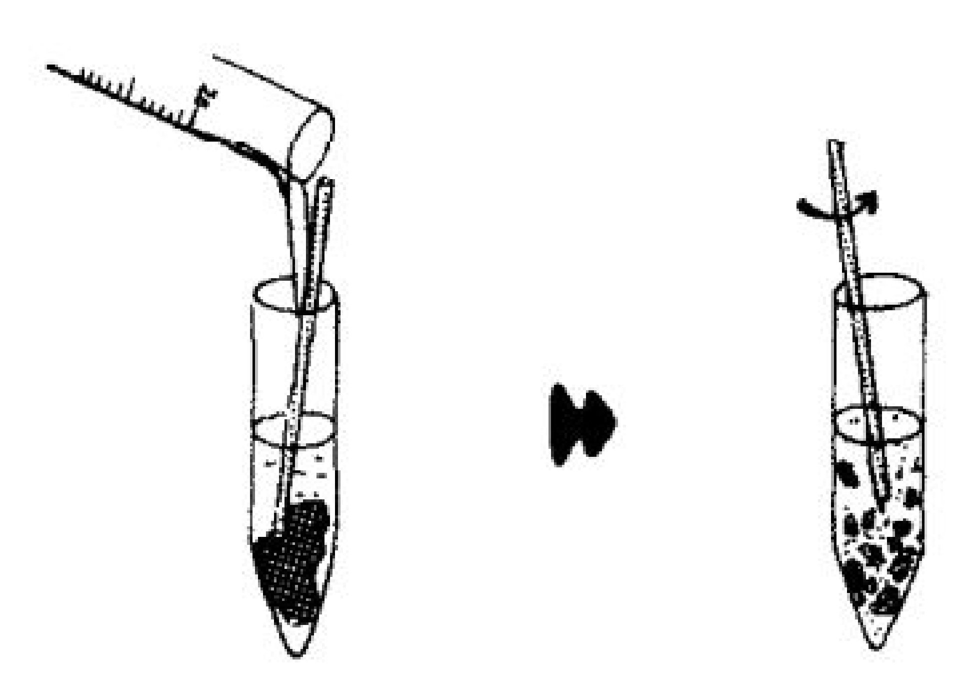
1. قبل إجراء الاختبار مباشرةً، يحضر محلول الأمينوبيرين:
   – يوضع حوالي 0.25 غ من الأمينوبيرين في قاع أنبوب اختبار.
   – يضاف 5 مل من الكحول 95%.
2. توضع أخيذة من البراز –حوالي 4 مل– في أنبوب تنبيذ. يضاف 7 مل من الماء المقطر إلى البراز ويمزجان جيداً (الشكل 110.4).
3. يُنَبَّذ المزيج بسرعة منخفضة (قوة نابذة 1000ج) حوالي 5 دقائق، أو إلى أن تترسب الأجزاء الصلبة (ويمكن أن تُسْتَعْمل لهذا الغرض منبذة يدوية).
4. يُبان السائل الطافي إلى أنبوب اختبار آخر ويُحْتَفَظ به.

5. يُضاف إلى أنبوب الاختبار المحتوي على السائل الطافي، دون مزج:
- 10 قطرات من محلول حمض الأسيتيك 10%.
- 5 مل من محلول الأمينوبيرين.

ولمنع الامتزاج تُسْنَد ذروة الممص المحتوي على محلول الأمينوبيرين إلى الجدار الداخلي لأنبوب الاختبار ويترك السائل ليسيل إلى أسفل الجدار.

6. ثم يضاف 10 قطرات من محلول بيروكسيد الهيدروجين 10%. لا يمزج، ويترك دقيقة واحدة.

يجب أن تقرأ النتائج خلال 5 دقائق من إضافة محلول بيروكسيد الهيدروجين.

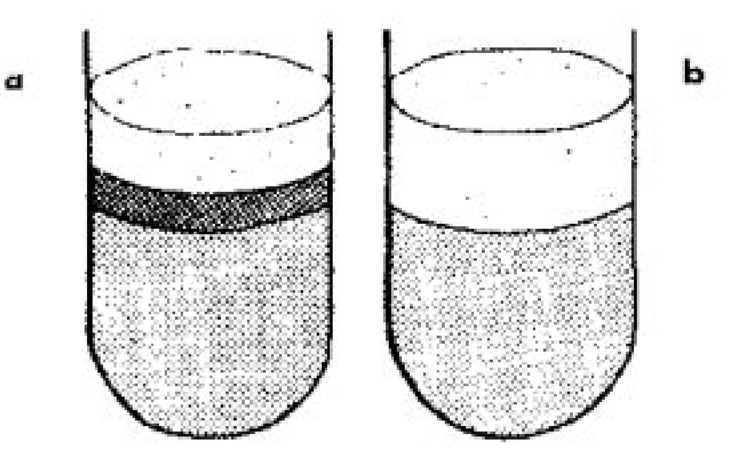


الشكل 110.4. مزج نموذج البراز بالماء المقطر.

4.6.4 النتائج

إذا كان التفاعل إيجابياً يظهر لون أحمر بين طبقتي السائل (الشكل 111.4).

تسجل النتائج كما يلي:
- أحمر شاحب = تفاعل إيجابي (+).
- أحمر = تفاعل إيجابي شديد (++).
- أحمر قاتم = تفاعل إيجابي شديد جداً (+++).
- عدم حدوث أي تبدل في اللون = تفاعل سلبي (−).



الشكل 111.4. الاختبار الكيميائي لتحري الدم الخفي في البراز. a: تفاعل إيجابي؛ b: تفاعل سلبي

7.4 طفيليات الدم والجلد

تُعْرَف الطفيليات التي تقضي كلاً أو جزءاً من دورة حياتها في الدم أو النسج باسم الطفيليات الدموية، وهي تتضمن:
- أنواع مسؤولة عن داء الفيلاريَّات تعود إلى أجناس الفُخَرِيَّة، والبروجِيَّة، وكُلاَّبِيَّة الذَّنَب، ، واللُّوا، والمَنسونيَّلَّة، والسحائية Meningonema، والخَيْطاء.
- أنواع المِثْقَبِيَّة: وهي مسؤولة عن داء المثقبيات.
- أنواع المُتَصَوِّرَة: وهي مسؤولة عن الملاريا (البرداء).

يمكن تشخيص العدوى بهذه الطفيليات وبأنواع البوزَلِيَّة بفحص نماذج الدم الملونة بالمجهر.

1.7.4 داء الفيلاريات (الخيطيات) filariasis

هناك أنواع كثيرة للفيلاريات ولكن ثمانٍ منها فقط متلائمة مع البشر وقابلة للانتقال بينهم. ومعظم أنواع الفيلاريات هي طفيليات خاصة بالحيوانات ونادراً ما تصيب البشر، ولكن هناك استثناء واحد يتمثل بالبروجية المَلاوِيَّة الدورية جزئياً subperiodic التي هي مُمْرِض ملاحظة هامة للبشر.

تقطن الديدانُ الفيلارية في الجهازَ اللمفي، وتغزو يرقاتُ الديدان الكهلة ـ المكروفيلاريات ـ الدمَ وبذلك يمكن استعرافها في فِلْم دموي. تقتصر مكروفيلاريات كلابية الذنب المتلوية عادةً على الجلد، ولكنها يمكن أن تكشف أحياناً في الدم. إن الأعراض السريرية الرئيسية لداء الفيلاريات هي تضخم العقد اللمفية والتهاب الأوعية اللمفية، وتحصل نوب تضخم العقد اللمفية التي تدوم عدة أيام بفواصل زمنية غير منتظمة مع الصداع والغثيان وتورم إحدى الساقين والأُدْرَة (القيلة المائية) وخراجات عقيمة؛ وفي الحالات المتقدمة يمكن أن يحدث داء الفيل elephantiasis في الأطراف السفلية نتيجة انسداد الدوران اللمفي؛ ويكون داءُ الفيل في الصَّفَن -كما يرى في داء الفيلاريات البنكروفتية (الناجم عن الفخرية البنكروفتية)ـ ونادراً ما يرى في داء الفيلاريات البروجية. إن عدوى مواطني المناطق التي يكون فيها داءُ الفيلاريات مُتَوَطِّناً يمكن أن تبقى عديمة الأعراض بالرغم من وجود المكروفيلاريات في الدم.

توجد مكروفيلاريات الطفيليات التالية في الدم البشري: الفخرية البنكروفتية، البروجية الملاوية، البروجية التيمورية، اللوا اللوائية، المنسونيلة اللجوجة والمنسونيلة الأوزاردية. ويبدي الجدول 7.4 التوزع الجغرافي للديدان الفيلاريه.

إن العدوى باللوا اللوائية Loa loa في أعضاء السكان الأهليين لمنطقة تكون فيها اللوا اللوائيةُ متوطنةً هي عديمة الأعراض غالباً، ويكون الأفرادُ غيرُ المقيمين الزائرون لهذه المناطق مستعدين للإصابة بالعدوى الأعراضية. تسبب العدوى الأولية تَوَرُّماً عابراً موضعاً تحت الجلد: "تورم كالابار". وكثيراً ما تهاجر الديدان الكهلة عبر الملتحمة مسببةً التهابها، ولكن العدوى لا تسبب العمى. ويمكن أن تؤدي العدوى المزمنة إلى حدوث مضاعفات كالمرض الكلوي والاعتلال الدماغي والاعتلال العضلي القلبي.

العدوى بالمَنْسونيلَة اللَّجوجَة Mansonella perstans عديمة الأعراض عموماً، ولكن العدوى وُجِدَت مترافقة بالحكة والألم البطني والشرى وتورم شبيه بتورم كالابار Calbar swelling. المَنْسونيلة الأوزارديَّة، كشأن المَنْسونيلة اللَّجوجَة، يُعتقد أن معظم العدوى تكون عديمة الأعراض، ولكن المَنْسونيلة الأوزارديَّة وُجِدَت مترافقة بضخم العقد اللمفية والحكة والحمى وآلام في الركبتين والكاحلَيْن.

تنقل الميكروفيلاريا بواسطة البعوض والذباب والقمعة التي تتغذى على دم الناس المصابين.

وهي تتطور إلى يرقات معدية تهاجم الأجزاء الفموية للحشرة.

فحص الجلد لتحري مكروفيلاريات كُلاَّبِيَّة الذَّنَب المُتَلَوِّيَّة

تؤخذ قطعة صغيرة جداً من جلد المريض، وفي سبيل رؤية المكروفيلاريات المتحركة بشدة يفحص محضر رطب بين شريحة وساترة تحت المجهر.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح
- ساترات
- ممص باستور
- إبرة (للحقن العضلي أو تحت الجلد)، مَقَاس 22.
- مِشْرَط أو شفرة حلاقة.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- إيثانول 70%.

الجدول 7.4. التوزع الجغرافي للديدان الفيلارية.

النوع	التوزع الجغرافي
البروجية الملاوية	آسيا
البروجية التيمورية	أجزاء من أندونيسيا
اللوا اللوائية	وسط وغرب أفريقية
المنسونيلة الأوزاردية	منطقة الكاريبي، أمريكا الوسطى والجنوبية
المنسونيلة اللجوجة	إفريقيا الوسطى والغربية، أمريكا الوسطى والجنوبية
كلابية الذنب المتلوية	أفريقية المدارية، أمريكا الوسطى والجنوبية – أجزاء من جزيرة العرب
الفخرية البنكروفتيه	متوطنة في العديد من البلدان المدارية

الطريقة

أخذ النماذج:

يبحث عن العُقيدات (الشكل 112.4):

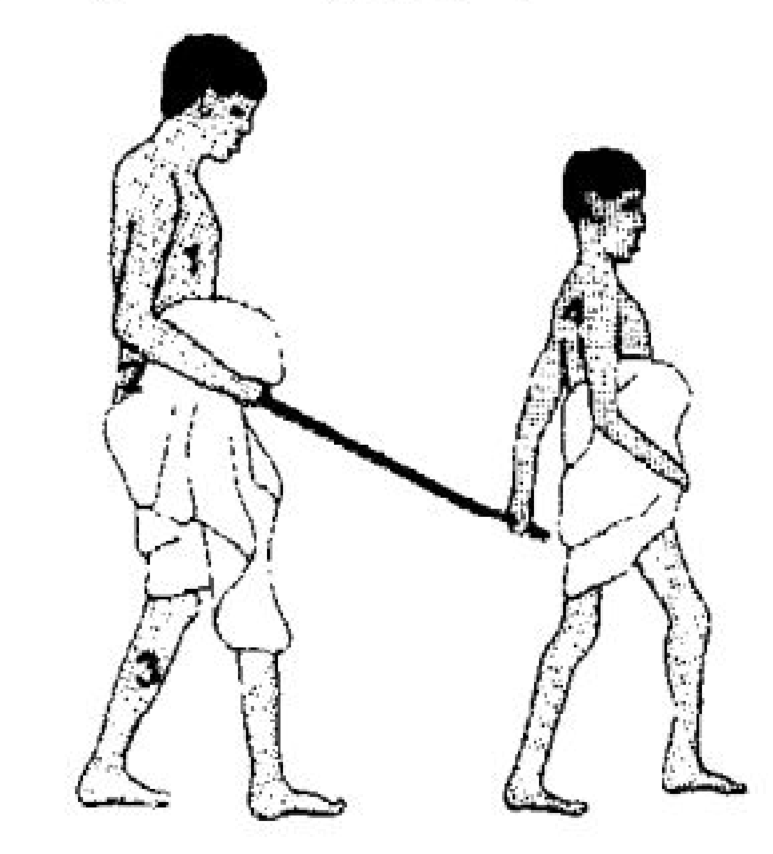
- على الصدر (فوق الأضلاع) (1)؛
- على الوركين (2)؛
- على الساقين (الظنبوب) (3)؛
- على الظهر (لوحي الكتف) (4).

تكون العقيدات مدورة وقاسية بقطر 1–5 سم، وعندما تُضغَط برؤوس الأصابع تنزلق تحت الجلد؛ ويؤخذ النموذج من الجلد في مركز العقيدة.

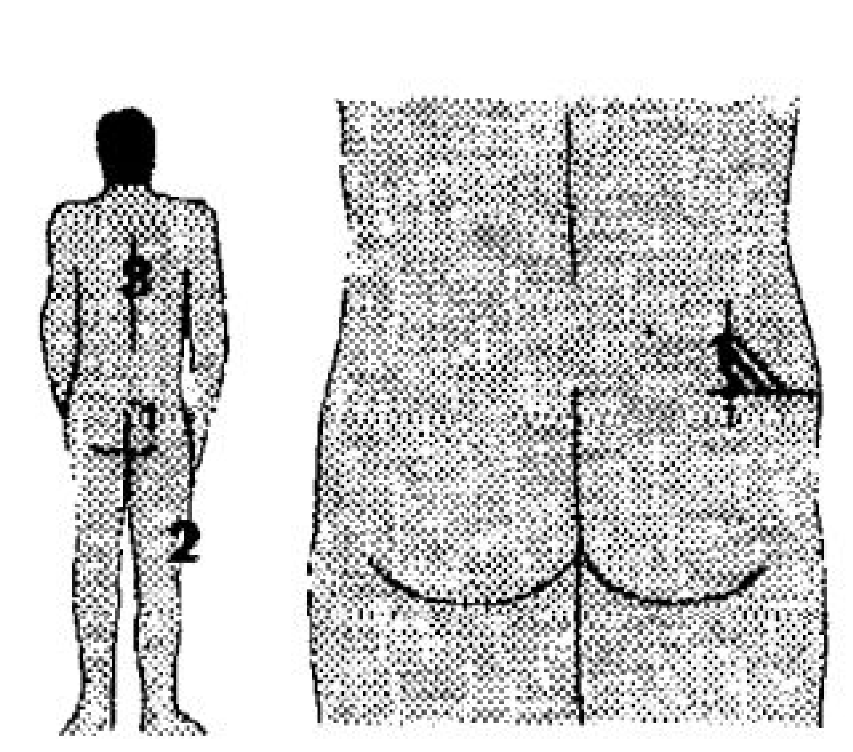
إذا لم يكن لدى المريض عقيدات، يؤخذ النموذج الجلدي من ذروة الأليتين (الجزء الوحشي العلوي حيث يجرى الحقن العضلي عادةً: 1 في الشكل 113.4).

فإذا كانت نتيجة هذا الفحص سلبية فإن النموذج يؤخذ من:

- الرَّبْلة (الجزء الوحشي العلوي: 2 في الشكل 113.4).
- الظهر (مركز لوح الكتف: 3 في الشكل 113.4).



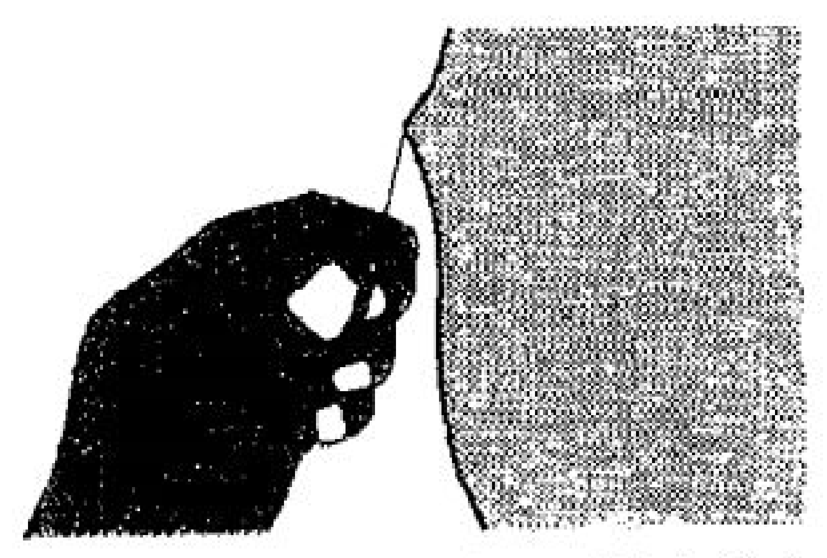
الشكل 112.4. مواضع أخذ نماذج الفنعات الجلدية من المرضى ذوي العقيدات: 1: الصدر (فوق الأضلاع)؛ 2: الوركين؛ 3: الساقين (الظنبوب)؛ 4: الظهر (لوحي الكتف).



الشكل 113.4. مواضع أخذ نماذج الفنعات الجلدية من المرضى بلا عقيدات: 1: ذروة الأليتين؛ 2: الربلتين (الجزء الوحشي العلوي)؛ 3: الظهر (لوحي الكتف).

ويوصى بأخذ ستة نماذج (2 من الأليتين و2 من الربلتين و2 من لوحي الكتف)، وتفحص قبل أن تسجل النتيجة على أنها سلبية.

1. يُلهَّب المشرط (أو شفرة الحلاقة) والإبرة بالكحول.
2. توضع قطرة واحدة من محلول كلوريد الصوديوم على الشريحة.
3. تُطهَّر المنطقة المختارة بقطعة من الشاش مغموسة بالإيثانول.
4. تستعمل اليد اليسرى ويُوخَز الجلد برأس الإبرة إلى عمق 2 أو 3 مم.
5. يُجذَب الجلد بعيداً عما تحته بواسطة رأس الإبرة (الشكل 114.4).
6. توضع الحافة القاطعة من المشرط أو الشفرة على الجلد المشدود فوق ذروة الإبرة (باليد اليمنى؛ الشكل 115.4).
7. تُقطَع بحركة سريعة تلك القطعة من الجلد المشدودة بواسطة رأس الإبرة بأقرب ما يكون إلى الإبرة (الشكل 116.4).



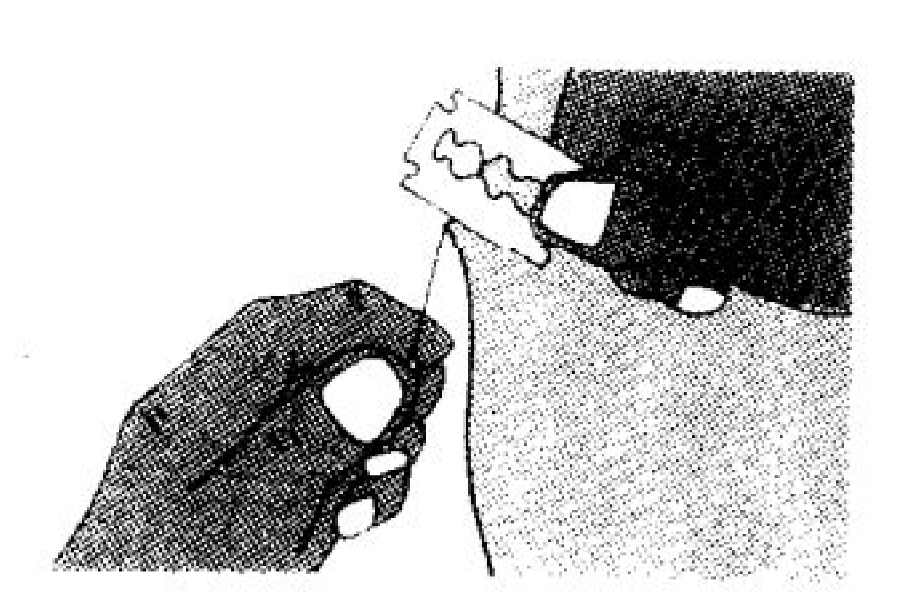
الشكل 114.4. رفع الجلد بواسطة إبرة.

يجب أن يكون النموذج بقطر 2–3 مم. ويجب أن يبقى ملتصقاً برأس الإبرة، ولا ينبغي أن يكون النموذج مُدَمّى بل إن هذه الخزعة يجب أن تكون خالية من الدم.

8. توضع القطعة الجلدية في قطرة من محلول كلوريد الصوديوم على الشريحة (باستعمال المشرط أو الشفرة إذا لزم). ولا تُبْسَط القطعة الجلدية إذ لو كانت مكروفيلاريةٌ واحدةٌ موجودةً فيها فإنها قد تتخرب.

9. تُسْتَر بساترة وإذا كان هنالك جزء من النموذج غير موجود بتماس السائل فيضاف مقدار أكبر من المحلول بحقنه تحت الساترة بواسطة ممص باستور حتى تصبح كل المساحة الموجودة تحت الساترة مرطبة مبللة.

10. يُنْتَظر 2–3 دقائق، وفي هذه الأثناء تُنَظَّف (تُطَهَّر) البقعة التي أُخِذ منها النموذج بواسطة الإيثانول، ويُطبق عليها ضِماد لاصِق.


الشكل 115.4. وضع الشفرة فوق ذروة الإبرة.

أخذ النماذج سيدانياً:

إذا لم يكن المجهر متوافراً أو كنا نجري مُسُوحات وبائية واسعة:

1. توضع قطعة الجلد في قارورة صغيرة تحتوي على 2 مل من محلول كلوريد الصوديوم.

2. يُنْتَظَر 15 دقيقة حتى تغادر المكروفيلاريات الجلد.

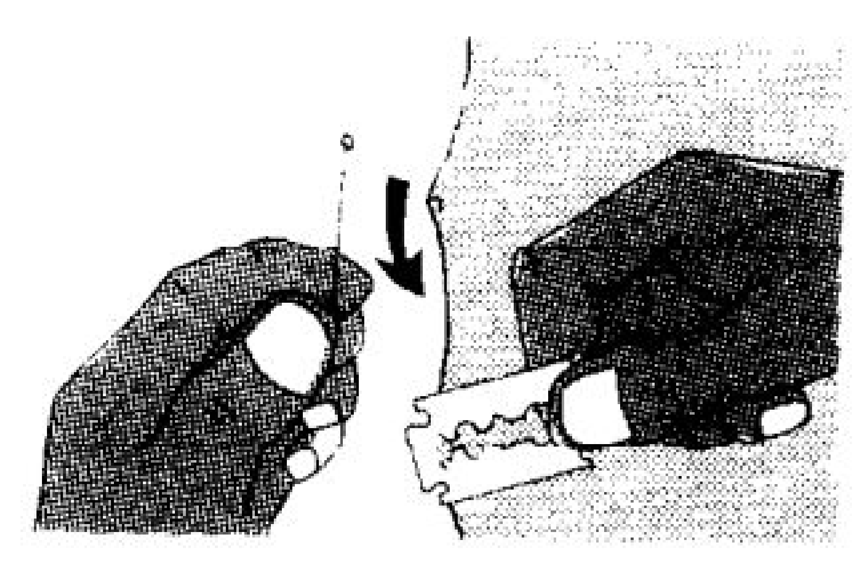
3. يُثَبَّت النموذج بإضافة 2 مل من محلول الفورمالدهيد 10% (الكاشف رقم 28)، ويُمْزَج وتُسَد القارورة بسِدادتها. ويكون زمن الحفظ عدة أشهر.

4. عند الرجوع إلى المختبر تُخَضُّ القارورة جيداً.

يُنْبَذ السائل (بعد استخراج قطعة الجلد منه) بسرعة متوسطة (قوة نابذة 2000 جاذبية) (أو تُستعمل المنبذة اليدوية).

5. يفحص راسب أنبوب التنبيذ بين شريحة وساترة تحت المجهر.

تُرى المكروفيلاريات الميتة بوضوح دون تلوين مع ما يميزها من الانحناءات الزاوِيَّة.


الشكل 116.4. أخذ نموذج القلعة الجلدية.

فحص النماذج بالمجهر

تستعمل الشيئية 10×. الميكروفيلاريا شديدة الحركة، وإن وجدت، فإنها تتحرك باتجاه محلول كلوريد اصوديوم (الشكل 117.4)، وهي تمتلك الخصائص التالية:

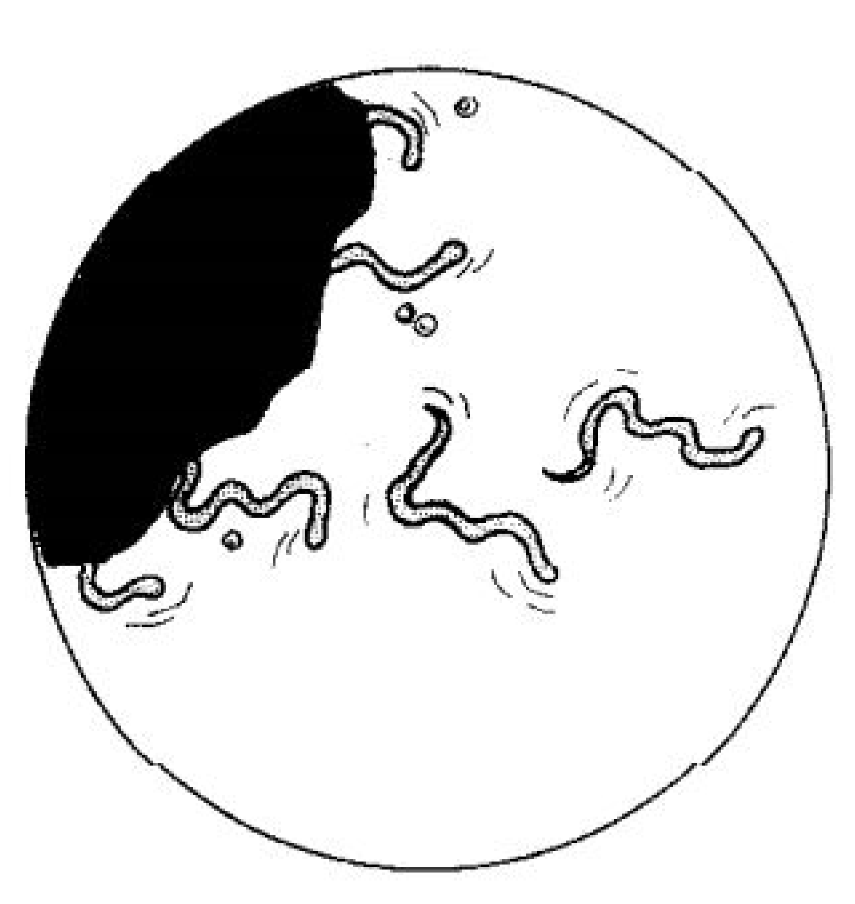
الطول: 200–315 مكم.

العرض: 5–9 مكم (حجم كرية حمراء واحدة).

انحناءات البدن: كالزاوية في الغالب.

النهاية الأمامية: أعرض بقليل.

الذيل: ملتوٍ ومُسْتَدِق.


الشكل 117.4. مكروفيلاريات كلابة الذنب الملتوية في محضر رطب.

عندما يحتوي النموذج على قليل جداً من المكروفيلاريات يُنْتَظَر 10 دقائق، فإذا لم تتبارز المكروفيلاريات يُبْحَث في داخل القطعة الجلدية، فقد تُرى في أعماقها مكروفيلارية تتحرك. وفي حالة الشك يؤخذ نموذج دموي طازج من إصبع المريض، ويفحص بين شريحة وساترة للبحث عن المكروفيلاريات. إذا كان الفحص إيجابياً تُحَضَّر لطاخة جلدية ملونة (انظر أدناه)، وفِلْم دموي ثخين ملون (ص 170) لتعيين هوية النوع. إذا وجدت المكروفيلاريا ستكون واضحة ولا حاجة للتلوين، إذ يمكن أن يتم استعرافها من خواص الانحناء الزاوي.

إجراءات الحصول على نموذج ملون:

تُعْمَل لطاخة على شريحة بسحق النموذج الجلدي، ثم تثبت بالميثانول وتُلون بملون غيمزا (ص 170).

إن المكروفيلاريات الملونة لكلابية الذنب المتلوية تبدي المظاهر التالية (الشكل 118.4):

– ليس لها غمد؛

– نهايتها الأمامية عريضة؛

– يبدي البدن التواءات متينة؛

– يَنْحَف ذيلها شيئاً فشيئاً حتى ينتهي بانحناء حاد؛

– تحتوي على نوى بيضوية كبيرة متطاولة وملونة باللون الأزرق المُسْوَدّ، وتكون منفصلة إحداها عن الأخرى جيداً ولا تصل إلى ذروة الذيل.

المكروفيلاريات الأخرى المصادفة في الخزعات الجلدية:

تسبب المنسونيلة المَفْتولَة الذنب M.streptocerca التهابَ الجلد الحِكّيّ للمنطقة المصابة بالعدوى، وتوجد مكروفيلارياتها في الجلد وتختلف عن كلابية الذنب المتلوية في النواحي التالية (الشكل 119.4):

– هي أقصر قليلاً (180–240 مكم)

– أقل عرضاً (5–6مكم: نصف عرض كرية حمراء)؛

– نهايتها الأمامية غير عريضة؛

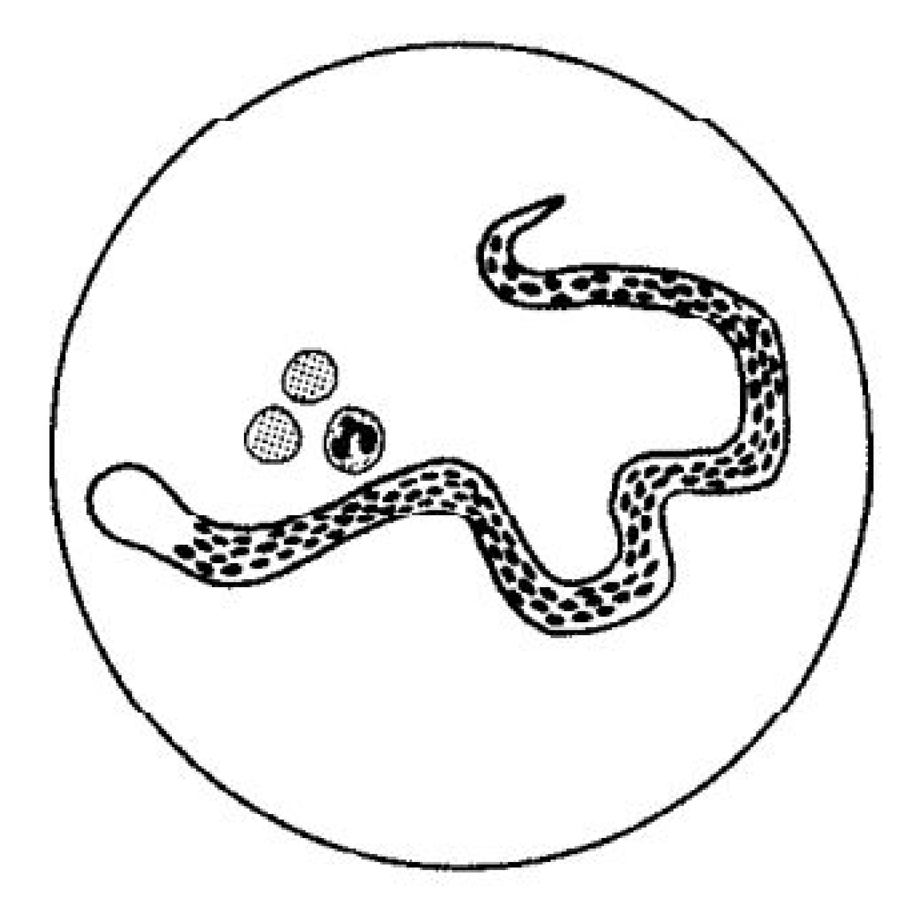
– ذنبها ينتهي بعكّاز (خُطّاف) مدور؛

– نواها أصغر وتصل إلى آخر الذنب.

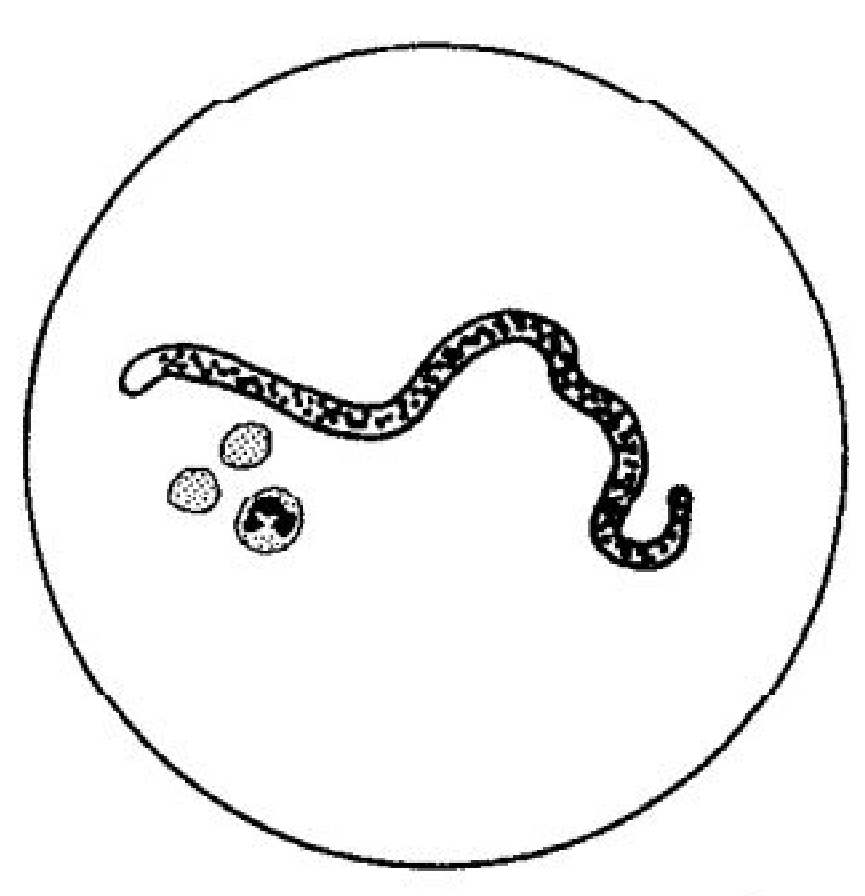
الإجراءات الموصى بها لكشف واستعراف (تعين الهوية) المكروفيلاريات في الدم

تَظْهَر مكروفيلاريات بعض الأنواع (مثل البروجية الملاوية واللوا اللوائية) في الدم بدَوْرِيَّة periodicity واضحة ليلية أو نهارية (الجدول 8.4)، في حين لا تبدي أنواع أخرى الدرجةَ ذاتها من الدورية فهي دورية جزئياً subperiodic في الليل (مثل الخَيْطاء اللّدودَة) أو دورية جزئياً في النهار (مثل شكل آخر للبروجية الملاوية)، بينما لا تبدي أنواع أخرى أيةَ دورية (مثل الفخرية البنكروفتية).

يجب انتقاء وقت أخذ نماذج الدم وفقاً للأعراض السريرية للمريض وقصة سفره، ويبدي الجدول 9.4 الأوقات الموصى بها لأخذ نماذج الدم لاختبارات تحري أنواع المكروفيلاريات الدورية والدورية جزئياً.



الشكل 118.4. مكروفيلاريات كلابية الذنب المتلوية في لطاخة ملونة بملون غيمزا.



الشكل 119.4. مكروفيلاريات المنسونيلة المفتولة الذنب في محضر رطب.

ملاحظة: رغم أن المكروفيلاريات ليست مُعْدِيَة مباشرةً للبشر إلا أنه يجب معاملة كل النماذج المرضية على أنها كامنة الخطر.

يجب أن يُفْحَص -كحد أدنى ثابت- نموذج "دموي نهاري" واحد (يؤخذ حوالي الساعة 13) ونموذج "دموي ليلي" واحد (يؤخذ حوالي الساعة 24)، وهذا كافٍ عادةً لكشف العداوى المختلطة والعداوى ذات الذراري الدورية جزئياً.

إن عينة الدم المأخوذة لتحري المكروفيلاريات تُفحص على الوجه الأفضل إذا فُحِصَت مباشرةً، وإذا كانت العينة "الدموية الليلية" لن تُفْحَص حتى الصباح التالي فيجب أن تُتْرَك في حرارة الغرفة.

يجب من أجل كل نموذج أخذ 5–10 مل من الدم في محلول السيترات الثلاثية الصوديوم 2% (الكاشف رقم 59) أو مضاد التخثر: الهيبارين؛ ويمكن أن تعطي عيناتُ وخز الإصبع المباشرة نتائجَ وافِيَة في المناطق التي يكون فيها داء الفيلاريات مُتَوَطِّناً.

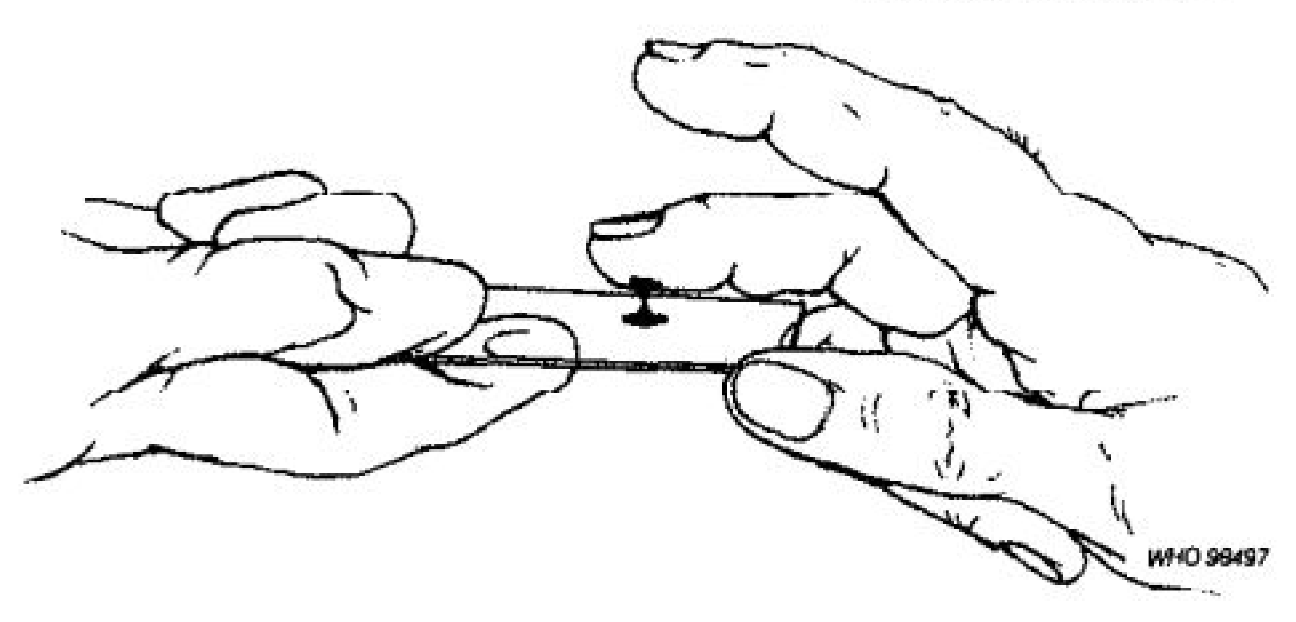
الفحص المجهري للدم الشعيري

المواد والكواشف:

- مجهر
- شرائح
- ساترات
- واخزات دموية
- ماسحات قطنية
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- الإيثانول 70%

الطريقة:

1. تُعَقَّم الإصبع الثالثة (الوسطى) بالكحول، وتجفف جيداً، ثم توخز بالواخزة.
2. تؤخذ القطرة الأولى من الدم التي تظهر (فهي تحتوي على كثير من المكروفيلاريات) وتوضع في منتصف الشريحة مباشرةً (الشكل 120.4).
3. تضاف قطرة مساوية بالحجم من محلول كلوريد الصوديوم إلى الشريحة.
4. يمزج الدم مع محلول كلوريد الصوديوم باستعمال زاوية شريحة، ثم يغطى المحضر بساترة.
5. تفحص الطاخة تحت المجهر بالشيئية 10× مع انقاص فتحة المكثفة. إن أول إشارة تدلنا على وجود المكروفيلاريات هي حركة سريعة بين الكريات الحمر.
6. لاستعراف المكروفيلاريا تحضر لطاختان على شريحة أخرى باستعمال قطرتين أخريين من الدم؛ وتلون كما ذكر في ص 170.



الشكل 120.4. أخذ عينة دم شعيري.

الجدول 8.4. خصائص الطفيليات الفيلارية البشرية الشائعة

الخاصة	البروجية الملاوية	البروجية التيمورية	اللوا اللوائية	المنسونيلة الأوزاردية	المنسونيلة اللجوجة	المنسونيلة المفتولة الذنب	كلابية الذنب الملتوية	الفخرية البنكروفتية
التوزع الجغرافي	جنوب شرق آسيا، شبه القارة الهندية	جزر سوندا الصغرى، تيمور	إفريقيا الوسطى والغربية	أمريكا الوسطى والجنوبية، الكاريبي	إفريقيا الوسطى والغربية، وأمريكا الجنوبية	إفريقيا الوسطى والغربية	إفريقيا، أمريكا الوسطى والجنوبية	البلدان المدارية وقرب المدارية
النواقل	البعوض (أنواع الأنوفيلة والمنسونية)	البعوض (أنواع الأنوفيلة)	الذباب النُّعَرَة (أنواع ذهبية العيون)	القَمَعَات اللادغَة (أنواع البُعْضوضيَّات) والذباب الأسود (أنواع الذُّلفاء)	القَمَعات اللادغَة (أنواع البُعْضوضيَّات)	القَمَعات اللادغَة (نواع البُعْضوضيَّات)	الذباب الأسود (أنواع الذُّلفاء)	البعوض (أنواع الباعضَة والزَّاعجَة والأنوفيلة والمَنْسونيَّة)
المَوئل								
الكهول	الجهاز اللمفي	الجهاز اللمفي	الأنسجة تحت الجلد، الحَجَاج	الأنسجة تحت الجلد	المَساريق، النسيج الضام لأعضاء الدم	الأدَمَة	الأنسجة تحت الجلد والأنسجة الأعمق	الجهز اللمفي
المكروفيلاريات	الدم	الدم	الدم	الدم	الدم	الجلد	الجلد	الدم
دورية المكروفيلاريات	ليلية ب	ليلية	نهارية	غير دورية	غير دورية	المعلومات غير متوفرة	المعلومات غير متوافرة	ليلية أ
مورفولوجي (شكل) المكروفيلاريات								موجود
الغمد	موجود	موجود	موجود	غائب	غائب	غائب	غائب	
الطول (مكم)	230–175 في اللطاخات؛ 240–300 في الفورمالين 2%	325–265 في اللطاخات؛ 330–385 في الفورمالين 2%	250–230 في اللطاخات؛ 270–300 في النورمالين 2%	205–160 في اللطاخات؛ 205–25C في الفورمالين 2%	200–190 في اللطاخات؛180–225 في الفورمالين 2%	240–180 في الجُذاذات الجلدية	315–300 في الجذاذات الجلدية	300–240 في اللطاخات؛ 275–320 في الفورمالين 2%
العرض (مكم)	6.0–5.0	8.6–4.4	7.0–5.0	5.0–3.0	5.0–4.0	6.0–5.0	9.0–5.0	10.0–7.5
الذيل	مستدق؛ نوى قرب النهاية وفي النهاية منفصلة كثيراً	مستدق؛ نوى قرب الهاية وفي النهية مفصلة كثيراً	مستدق؛ نوى بينها مسافات غير منتظمة	طويل نحيل مؤنف؛ عديم النوى	مدور بشكل كليل؛ نوى تبلغ الذروة	مدور بشكل كليل منحن بشكل خطاف؛ نوى تبلغ الذروة	معوج بشكل نموذجي؛ مستدق حتى الذروة؛ عديم النوى	مستدق؛ عديم النوى
الملامح الرئيسية للمكروفيلاريات	حيز الرأس طويل؛ الغمد يتلون بالوردي بغيمزا؛ نوى في النهاية وقرب النهاية	حيز الرأس طويل؛ الغمد لا يتلون بغيمزا؛ نوى في الهاية وقرب الهاية	الغمد لا يتلون بغيمزا؛ صف واحد من النوى حتى نهاية الذيل	حجم صغير؛ ذيل طويل نحيل؛ غير دورية	حجم صغير؛ ذيل كليل مملوء بالنوى؛ غير دورية	شكل نحيل؛ ذيل خطافي مملوءبالنوى؛ تُشاهد في الجلد	ذيل معوج؛ تشاهد في الجلد وأحياناً في البول أو الدم بعد المعالجة	حيز الرأس قصير؛ لغمد غير متلون بغيمزا؛ للجسم انحناءات سَلسة (منتظمة)؛ نوى مبعثَرة

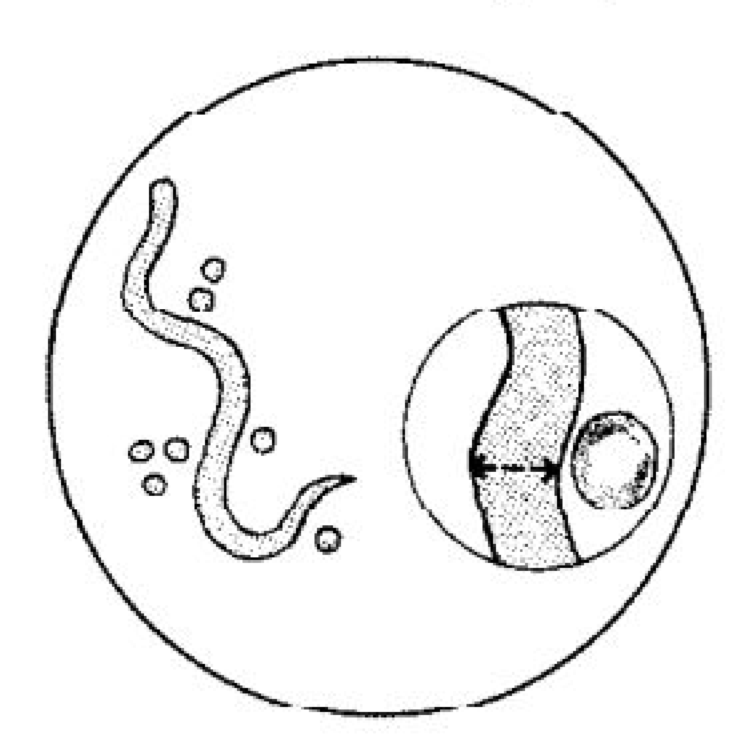
أ دورية جزئياً نهاراً في نيوكاليدونيا وبولينيزيا؛ دورية جزئياً ليلاً في المناطق لريفية من تايلاند.

ب دورية جزئيا ليلا في إندونيسيا وماليزيا وأجزاء من الفيليبين وتايلاند.

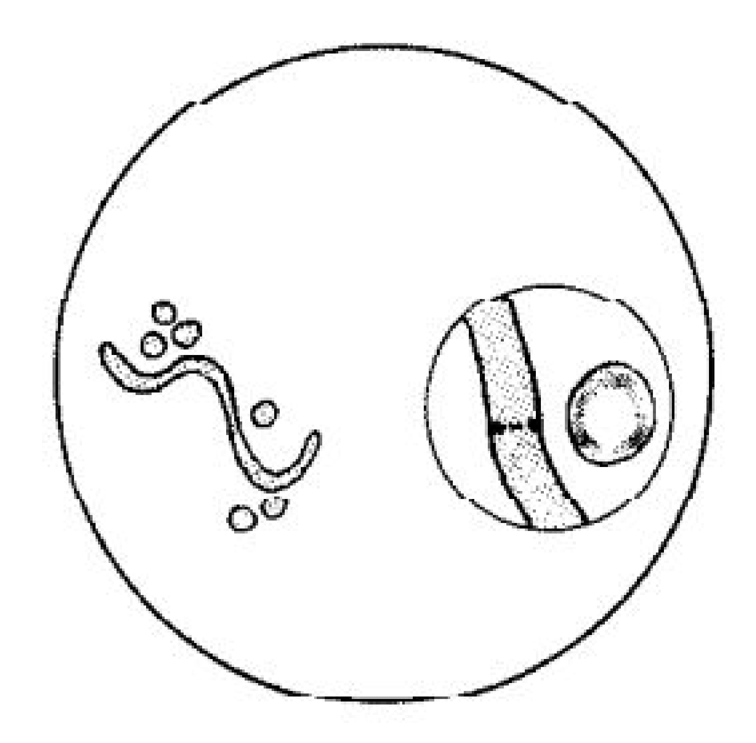
الجدول 9.4. الأوقات الموصى بها لأخذ نماذج الدم لاختبارات تحري أنواع المكروفيلاريات.

النوع×	الوقت الموصى به لأخذ النموذج
دوري (ليلي)	الساعة 23–1 (الذروة 24)
دوري (نهاري)	الساعة 12–14 (الذروة 13)
دوري جزئياً (ليلي)	الساعة 20–22 (الذروة 21)
دوري جزئياً (نهاري)	الساعة 15–17 (الذروة 16)
غير دوري	أي وقت (النهار أو الليل)

×انظر الجدول 8.4



الشكل 121.4. مكروفيلارية مرضية: الطول: 250–300 مكم؛ الثخانة: 6–8 مكم (قطر كرية حمراء) مثل: الفخرية البنكروفتية، اللوا اللوائية، البروجية الملاوية.



الشكل 122.4. مكروفيلارية مشبوهة الإمراضية: الطول: حوالي 150 مكم؛ الثخانة: حوالي 4 مكم (نصف قطر كرية حمراء). مثل. المنسونيلة اللجوجة، المنسونيلة الأوزاردية.

والتلوين ضروري عاده لاستعراف المكروفيلاريات في اللطاخة الدموية، ولكن من الممكن تحديد الهويه والإمراضية نوعاً ما في اللطاخة الطازجة (الشكل 121.4 و122.4)

الفحص المجهري للدم الوريدي المركز بالتنبيذ

المواد والكواشف:

- مجهر
- شرائح مجهرية
- محاقن (5 مل أو 10 مل)
- إبر للبزل الوريدي
- منبذة أو منبذة مكروهيماتوكريت
- أنابيب تنبيذ مخروطية أو أنابيب مكروهيماتوكريت شعرية
- غضار بلاستيكي
- شريط لاصق
- مضاد تخثر: محلول سيترات ثلاثية الصوديوم 2% (الكاشف رقم 59)
- محلول الفورمالدهيد 2% أو محلول الصابونين 1% (الكاشف رقم 48)
- أثير
- إيثانول 70%.

الطريقة:

1. يؤخذ 4 مل من الدم الوريدي ثم تُمَجّ في قارورة تحتوي على 1 مل من محلول السيترات الثلاثية الصوديوم وتمزج.
2. يوضع في أنبوب تنبيذ مخروطي 10 مل من محلول الفورمالدهيد 2%، ويضاف 1 مل من الدم السيتراتي. يمزج ويُنْتَظَر 5 دقائق حتى تنحل الكريات الحمراء.
3. يُنْبَذ لمدة 5 دقائق بسرعة عالية (قوة نابذة 000 10جاذبية)، ثم يُسكب السائل الطافي، ويُنْقَر على الأنبوب لمزج الراسب.
4. توضع قطرة من الراسب على شريحة، وتفرش القطرة لتشكيل لطاخة رقيقة، ثم تترك لتجف في الهواء.
5. تثبت اللطاخة باستعمال الأثير والإيثانول بكميات متساوية 1: 1، وتترك لتجف دقيقتين، ثم تُلَوَّن مباشرة بملون غيمزا (ص 170) لاستعراف أنواع المكروفيلاريات.

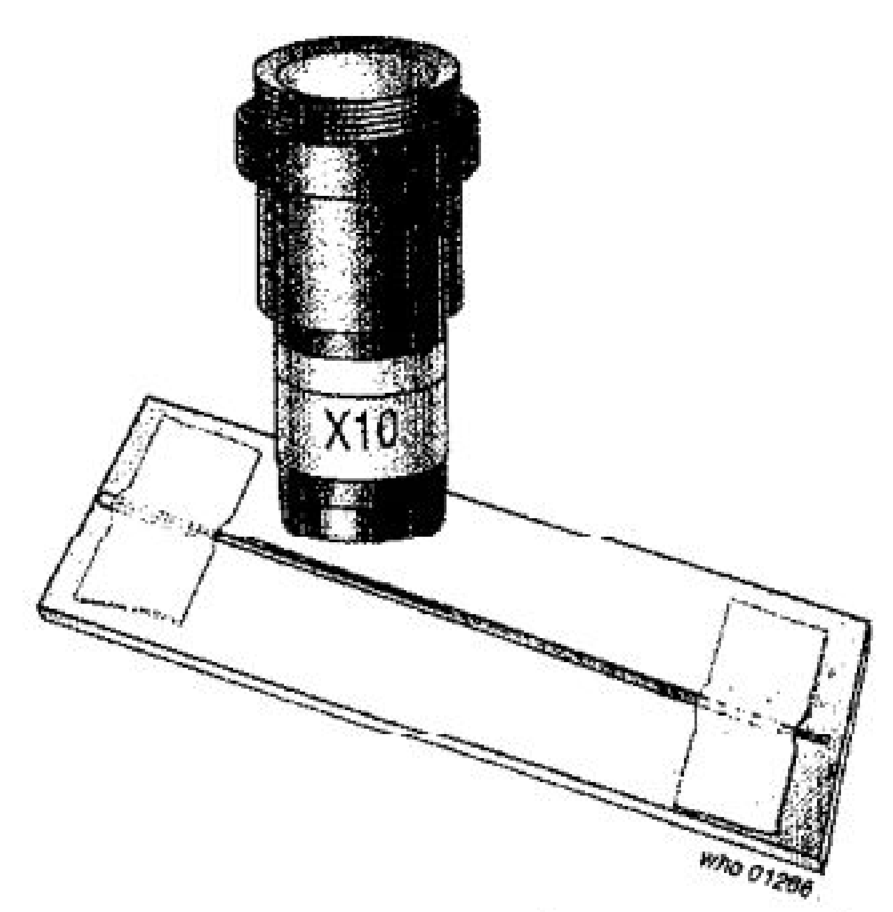
الطريقة البديلة باستخدام منبذة المكروهيماتوكريت

1. يؤخذ 4 مل من الدم الوريدي المريض إلى قارورة تحتوي على 1مل من محلول السيترات ثلاثية الصوديوم، ويمزج.
2. يملأ الأنبوب الشعري للمكروهيماتوكريت إلى ثلاثة أرباعه بالدم السيتراتي. ثم تختم إحدى نهايتي الأنبوب بواسطة معجون البلاستيك أو التسخين.
3. يُنبَذ في منبذة المكروهيماتوكريت بسرعة عالية (قوة نابذة 000 10 جاذبية) لمدة دقيقتين.
4. يوضع الأنبوب الشعري على شريحة وتثبت نهايتاه بالشريط اللاصق.
5. يفحص الخط الفاصل بين الكريات وبين البلازما تحت المجهر (الشكل 123.4) باستعمال الشيئية 10× مع إنقاص فتحة المكثفة.

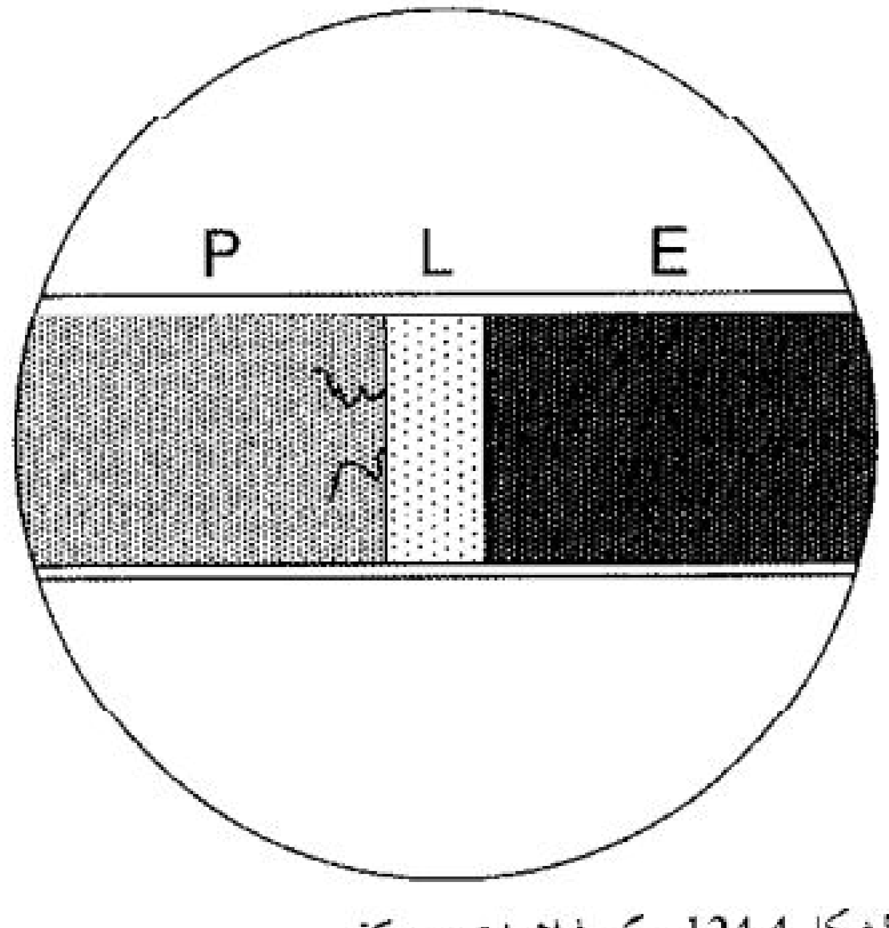
ترى المكروفيلاريات المتحركة في قاع عمود البلازما فوق طبقة الكريات البيضاء والكريات الحمر مباشرة (الشكل 124.4).

يمكن أن يُكسَر الأنبوب عند قاع عمود البلازما (الشكل 124.4)، وتُستعمل القطرة الأولى من كل من قطعتي الأنبوب المكسور لتحضير فلم ثخين يُلَوَّن بملون غيمزا (ص 170) لتعيين هوية النوع.

من الممكن فحص الدم الشعيري بهذه الطريقة. تؤخذ نقطتان من دم الإصبع إلى شريحة وتمزج مع نقطة واحدة من محلول السيترات ثلاثية الصوديوم 2%.



الشكل 123.4. فحص الأنبوب الشعري للمكروهيماتوكريت تحت المجهر.



الشكل 124.4. مكروفيلاريات متحركة.
E: كريات حمر؛ L: كريات بيض؛ P: بلازما

الطريقة البديلة باستخدام محلول الصابونين

1. يضاف 10 مل من الدم السيتراتي إلى 10 مل من محلول الصابونين الحال.
2. يمزج الدم بلطف ويترك لمدة 15 دقيقة كي تنحل الكريات.
3. يُنبَّذ بقوة نابذة 2000 جاذبية تقريباً لمدة 15 دقيقة.
4. يمص السائل الطافي ويرمى في إناءٍ يحتوي على مطهر.
5. يُنقل الراسب إلى شريحة مجهرية ويغطى بساترة.
6. يُفحص الراسب بكامله ويجري التحري عن المكروفيلاريات المتحركة باستعمال الشيئية 10×. (تبقى المكروفيلاريات متحركة في عينة "دموية ليلية" مفحوصة في الصباح التالي).
7. يجري عدّ المكروفيلاريات في المحضر وية... م عددها على 10 للحصول على عدد المكروفيلاريات في كل 1 مل من الدم.

من الضروري توفر خبرة كبيرة لتعيين هوية المكروفيلاريات غير الملونة، ويُنصح بإنجاز تعيين الهوية على المحضرات الملونة (ص 170).

الفحص المجهري للدم الوريدي المركز بطريقة الترشيح

يمكن استعمال أيٍّ من طريقتي الترشيح أو التنبيذ، ولكن طريقة الترشيح هي الأكثر حساسية.

المواد والكواشف:

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- مِحْقَنَة 15 مل
- حامل للمرشّح filter holder من نمط سويْنِكس
- مرشح غشائي من متعدد الكربونات (حجم المَسَمّ 5 مكم) [1]
- ورق ترشيح بقطر 25 م
- طبق ضَحْل سعة 15 مل ذو غطاء
- ملقط كليل
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)
- ميثانول مطلق
- ماء مقطر.

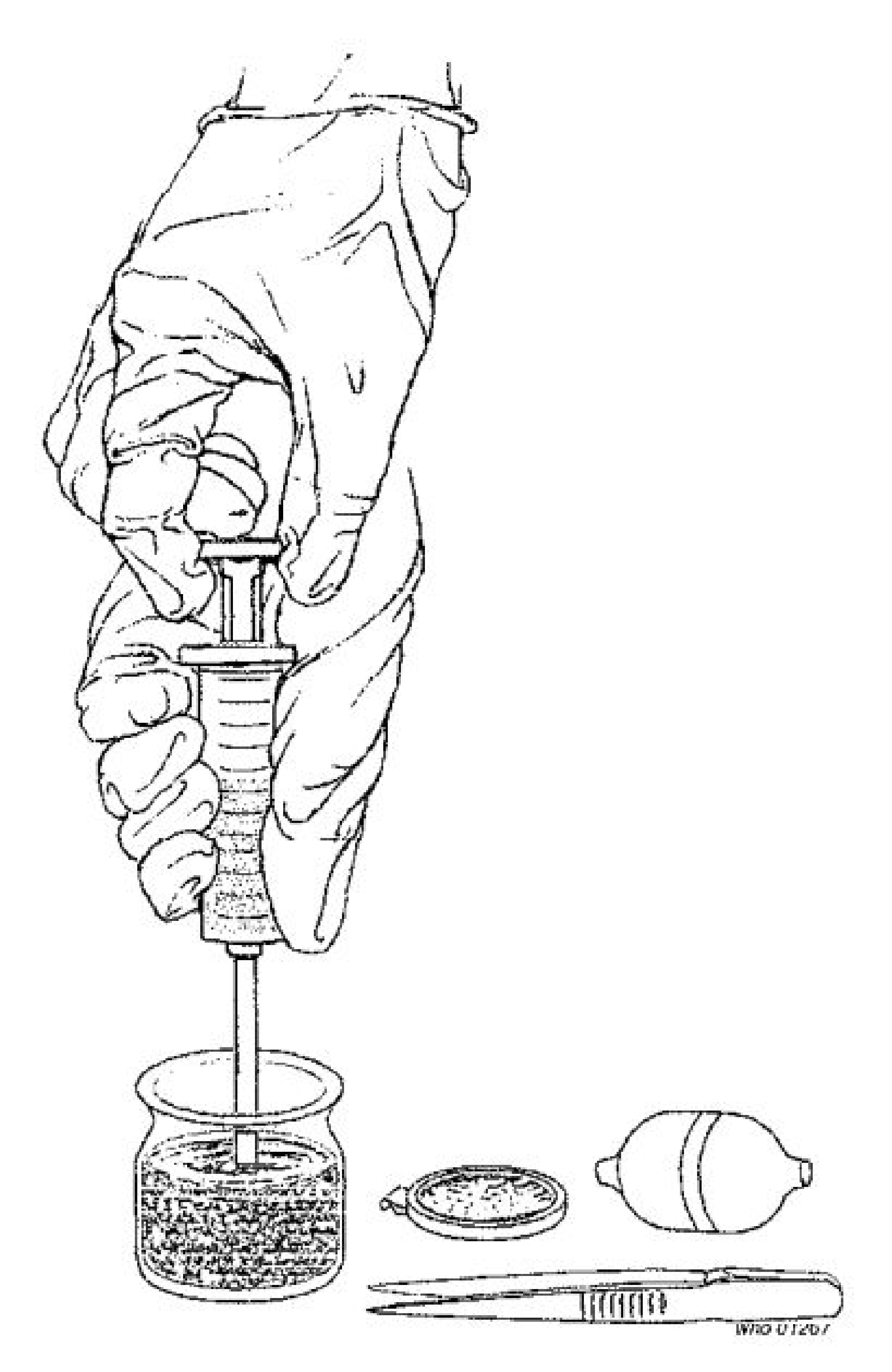
الطريقة:

1. يسحب 10 مل من الماء المقطر إلى المحقنة.
2. يسحب 1 مل من الدم السيتراتي أو الدم الطازج إلى المحقنة (الشكل 125.4) ويدور بلطف حتى يتم المزج، وينتظر 2–3 دقائق لتنحل الكريات الحمر.
3. يبلل ورق الترشيح ببضع قطرات من الماء المقطر ويغطى بغشاء الترشيح. يوضع المرشح على الحامل.
4. توصل المحقنة بحاملٍ للمرشح ويُدْفَع الدم بلطف عبر المرشح إلى طبق يحوي محلول مطهر (الشكل 126.4).
5. تُنزع المحقنة من حامل المرشح ويُسحب إليها 10 مل من الماء المقطر.
6. يعاد وصل حامل المرشح ويُدْفَع الماء بلطف عبر المرشح إلى الطبق الحاوي على المحلول المطهر لإزالة الحطام (الشكل 127.4).

1. يجب استخدام مرشح بثقوب 3 مكرون في أماكن موبوءة بالمنسونيلة اللجوجة.

7. تُنزع المحقنة من حامل المرشح ويسحب إليها حوالي 5 مل من الهواء.
8. يعاد وصل حامل المرشح ويُدْفَع الهواء عبر المرشح فوق الطبق الحاوي على المطهر لإزالة الماء الزائد. يتم التخلص من المحلول المطهر.
9. تفك المحقنة من حامل المرشح ويُرفع المرشح الغشائي باستعمال ملقط كَليل.
10. يوضع المرشح الغشائي –ووجهه العلوي متجه نحو الأعلى– فوق شريحة، ثم تضاف قطرة من المحلول الملحي وتغطى بساترة.
11. يُفحص المرشح الغشائي بكامله ويُتحرى عن المكروفيلاريات المتحركة باستعمال الشيئية 10×. (تبقى المكروفيلاريات متحركة في نموذج "دموي ليلي" مفحوص في الصباح التالي).
12. يجري عدُّ المكروفيلاريات في المحضر ويقسم عددها على 10 للحصول على العدد التقريبي للمكروفيلاريات في كل 1 مل من الدم.

من الضروري توفر خبرة كبيرة لتعيين هوية المكروفيلاريات غير الملونة، ويُنصح بإنجاز تعيين الهوية على المحضرات الملونة بالطريقة التالية، (انظر اسفل الصفحة).
ولتحضير ملون، تتبع الطريقة الموصوفة أعلاه مع إجراء التعديلات التالية:



الشكل 125.4. سحب الدم السيتراتي إلى محقنة.



الشكل 127.4. شطف المرشح.



الشكل 126.4. ترشيح عينة الدم.

(بقية البنود المدرجة في الصفحة 168)

8 – يعاد وصل المحقنة إلى حامل المرشح ويُدفع الهواء عبر المرشح فوق الطبق الحاوي على المطهر لإزالة الماء الزائد.

9 – تفك المحقنة من حامل المرشح ويمص حوالى 7 مل من الهواء و 3 مل من الميتانول.

10 – يعاد وصل المحقنة إلى حامل المرشح ويدفع المتانول والهواء عبر المرشح فوق الطبق الحاوي على المطهر لتثبيت المكروفيلاريا ثم يزال الميتانول الزائد من المرشح، على الترتيب.

11 – تفك المحقنة من حامل المرشح. ويعرى حامل المرشح ويزال المرشح بواسطة ملقط.

12 – يوضع المرشح الغشائي – ووجهه العلوي متجه نحو الأعلى – فوق شريحة، ويجفف في الهواء.

13 – يلون بملون غمزا كما هو للفلم الثخين (انظر صفحة 175) ويفحص كامل المرشح بواسطة الشيئية x10.

طريقة تلوين المكروفيلاريات

المواد والكواشف:

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ملون غيمزا (الكاشف رقم 29).
- ملون الهيماتوكسيلين بحسب ديلافيلد (الكاشف رقم 19).
- الميثانول.
- الماء المدروء (الكاشف رقم 15).

الطريقة:

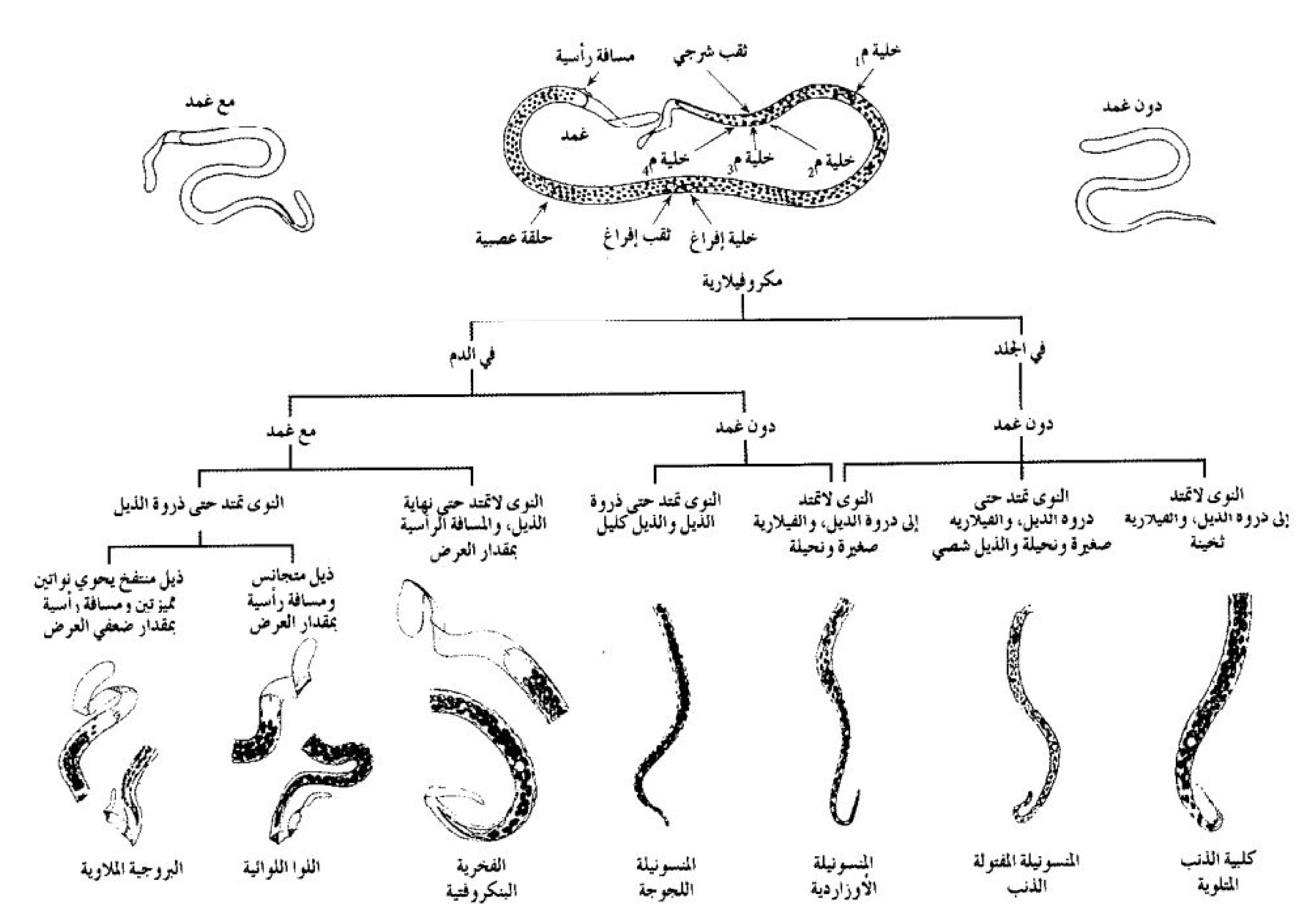
1. تُحضر لطاخة دموية ثخينة من الراسب كما وصف في الصفحة 174. تُترك اللطاخة لتجف في الهواء.
2. تُثبت بالميثانول لمدة دقيقة واحدة.
3. تُلون بملون غيمزا (المُخفَّف بنسبة 1:20 بالماء المدروء، الباهاء pH 6.8) لمدة 30 دقيقة.
4. تُفحص بالمجهر، وإذا كان من الصعب تمييز نوى المكروفيلاريات تُعاد الشريحة إلى محلول ملون غيمزا لمدة 5–10 دقائق أخرى.
5. تُلون بملون الهيماتوكسيلين بحسب ديلافيلد (المخفف بنسبة 1:10 بالماء المدروء، الباهاء pH 6.8) لمدة 5 دقائق، ثم تُغسل بالماء المدروء ذي الباهاء pH 6.8. (إن هذا الملون الثاني ضروري لأن ملون غيمزا وحده لا يلون غمدَ اللوا اللوائية جيداً).
6. يُفحص المحضر بالمجهر فتستعمل الشيئية 10× أولاً لتحديد موضع المكروفيلاريات ثم تُعيَّن هوية أنواع الفيلاريات باستعمال الشيئيتين 40× و 100×.

النتائج:

تظهر المكروفيلاريات تحت المجهر الضوئي (بعد التلوين الملائم) كأحياء ابتدائية ثعبانية الشكل ومغلفة غالباً بغمد ومملوءة بنوى لكثير من الخلايا (الشكل 128.4).

لا تتصف كل الأنواع بوجود غمد، وفي الأنواع التي تملك غمداً يمكن أن يمتد الغمد مسافة قصيرة أو طويلة إلى ما بعد أيٍّ من النهايتين. ويبدي الغمد في بعض الأنواع – بحسب الملون المستعمل – صفات تلونية مميزة تساعد في استعراف (تعيين الهوية) الأنواع.

إن نوى الخلايا التي تملأ الجسم تكون ملونة بشكل قاتم عادةً وقد تكون محتشدة معاً أو مبعثرة (انظر: الشكل 128.4)، وتكون النهاية الأمامية خالية من النوى على نحوٍ مميز وتدعى الحَيِّز الرأسي الذي قد يكون قصيراً أو طويلاً.



الشكل 128.4. المكروفيلاريات المشاهدة لدى البشر:
R1،2،3،4: خلايا مستقيمية.

عند النظر من النهاية الأمامية إلى الخلفية للجسم تُرى أحياز وخلايا إضافية تُستخدم كمَعالم تشريحية وهي تتضمن الحلقة العصبية، والمَسَمّ الإفراغي، والخلية الإفراغية والمسم (الثقب) الشرجي؛ ويمكن في بعض الأنواع رؤية كتلة عديمة الشكل تدعى الجسم الداخلي و4 خلايا صغيرة (تُعرف باسم الخلايا المستقيمية) وذلك عادةً بمساعده ملونات خاصة. إن بعض هذه البنى وأوضاعها مفيدة في استعراف الأنواع، وتتضمن الملامح المفيدة الأخرى شكلَ الذيل ووجودَ أو غياب النوى ضمنه.

يلخص الجدول 8.4 ملامح الطفيليات الفيلاريه البشرية الشائعة المستعملة في استعرافها.

ملاحظة:

- تفقد مكروفيلارياتُ الذُرّيّةِ الدورية للبروجية الملاوية غمدَها أحياناً.
- إن الدلائل الإرشادية لاستعراف المكروفيلاريات والمذكورة آنفاً وتلك التي تذكر في معظم الكتب المدرسية تجعل عملية الاستعراف تبدو بسيطةً على نحوٍ مضلل. ففي الواقع من الصعب أحياناً رؤية الغمد، وفي أحيانٍ أخرى لاتظهر النوى بتوضعها المميز عند ذروة الذيل؛ وهكذا فإن أصول الممارسة الجيدة تقتضي فحص عدة مكروفيلاريات بحرص وأناة قبل تقرير نوعها.

قد يكون استعراف الأنواع صعباً والأخطاء متواترة، ومع ذلك فمن الممكن استعراف الأنواع الملاحظة بثقة وتأكيد إذا أجريت دراسة منهجية لكل الخصائص المذكورة؛ وهكذا يجب ألا يستند الاستعراف على خاصة وحيدة وإنما على كل الملامح مجتمعةً.

الشكل 129.4. سبب محتمل للاستعراف الخاطئ للفخرية البنكروفتية: الذيل مقطوع أو ملتف.

أسباب محتملة للاستعراف الخاطئ:

الذيـل المقطـوع أو الملتـف: إذا كان ذيل الفخريـة البنكروفتية مقطوعاً أو ملتفاً على نفسـه (الشكل 129.4) فيبدو كما لو أن النوى تمتد حتى ذروته كاللوا اللوائية.

الغمـد المتمـزق أو العديم اللون: يكون الغمد أحياناً متمزقـاً أو عديم اللون تقريباً، ففي اللوا اللوائية مثلاً يظهر الغمد كحيز عديم اللون بين الذيل وبين الكريات الحمراء.

المكروفيلاريـات الكبـيرة أو الصغيرة بشكل غـير معتاد: تكون بعض المنسـونيلات اللجوجة طويلـة جداً (200 مكـم) وتكون بعض الفخريـات البنكروفتية واللوا اللوائية صـغيرة (250 مكم).

اللطاخـات (أو الأفـلام) المحضـرة بشكل سيـئ: إذا تخربت اللطاخة في أثناء تحضيرها (أو الفلـم) فإن الفخرية البنكروفتية قد تبدو ملتوية واللوا اللوائية قد تبدي قليلاً من الانحناءات.

المنشـأ الجغـرافي للمريضـ: يجب أن يبقى في الذهن دائماً من أين أتى المريض أو أيـة بلاد قد زارها حديثاً، فإذا كان قد أتى من:

الكامِرون أو نيجيريا الشرقية أو حوض نهر الزائير فمن المحتمل أن يكون الطفيلي هو اللوا اللوائية؛

غانا أو الهند أو السِنِغال أو جزائر الهند الغربية فمن المحتمل أن يكون الطفيلي هو الفخرية البنكروفتية؛

تايلاند فيحتمل أن يكون الطفيلي هو البروجية الملاوية؛

من غويانا فيحتمل أن يكون الطفيلي هو المنسونيلة الأوزاردية.

فحص الأفلام الرقيقة: لا يوصى بتعيين هوية المكروفيلاريات في الأفلام الملونة الرقيقة لأنها قد تكون منكمشة ومشوهة ويصعب التعرف عليها.

2.7.4 الملاريا (البُرَداء)

الملاريـا التي تسـببها عدوى بحيوانـات أوالي من جنس المتصـورة Plasmodium هـي المرض الطفيلي الأكـثر أهمية في البلدان المدارية. تنتقـل الملاريا إلى البشر من خلال حقن الحيوانات البَوْغِيَّة sporozoites للمتصـورة Plasmodium بواسطة أنثى بعوض الأنوفيلة أو بنقل الدم. ترحل الحيوانات البوغية عبر الدم إلى الكبد حيث تتحول إلى مُتَقَسِّـمات schizonts نسـيجية كبيرة تحتوي على أعداد كبيرة من الأقاسـيم merozoites (تكاثر تَقَسُّمي نسيجي)، وتبدأ هذه بالتمزق بعد 5–20 يوماً ـ بحسب النوع ـ وتغزو الأقاسيمُ المتحررةُ الكرياتِ الحمرَ الدوارة. تتكرر دورة التَّنَشُّخ بفترات منتظمة.

الأعراض السريرية

الأعراض السريرية الأولى لعدوى الملاريا هي الحمّى المنخفضة الدرجة والصداع والوَجَع العضلي والتَّوَعُّك، وكثيراً ما تُفسر هذه الأعراض خطأً على أنها نتيجة عدوى فيروسـية بالنزلة الوافدة؛ ويتبع الأعراضَ الشبيهة بالنزلـة الوافـدة نوبٌ دورية راجعـة من الحمى المرتفعـة والارْتِعـاد. وإذا كانت الحرارة المرتفعة مصـحوبةً باضـطرابات نفسية تتجلى بهَلاوِس واسـتثارة دماغية فإن هذا يمكن أن يدل على الملاريا الدماغية والتي هي مميتة غالباً.

قـد تكـون الأعراض السريرية أكثر اعتـدالاً في المناطق التي تكون فيها الملاريا متوطنـةً وحيث تنامت مناعة جزئية تجاه المرض لدى السكان.

أنواع المتصورة المُعدِيَة للبشر

هنـاك أربعـة أنواع مختلفة للمتصـورة معدية للبشر، وهي المتصـورة المنجلية والمتصـورة النشيطة الوبالية والمتصـورة البيضوية والمتصورة النشيطة.

الجدول 10.4. التوزع الجغرافي لأنواع المتصورة المعدية للبشر.

البلد أو المنطقة	المتصورة المنجلية	المتصورة الوبالية	المتصورة البيضوية	المتصورة النشيطة
وسط إفريقيا	سائدة	نادرة	نادرة	نادرة
شرقي إفريقيا	سائدة	نادرة	نادرة	شائعة
شمالي إفريقيا	نادرة جداً	نادرة جداً	غائبة	سائدة
غربي إفريقيا	سائدة	نادرة	نادرة	نادرة جداً
أمريكا الوسطى	شائعة	نادرة	غائبة	سائدة
أمريكا الجنوبية	شائعة	شائعة	غائبة	سائدة
وسط وجنوب غرب آسيا	شائعة	شائعة	غائبة	سائدة
جنوب شرق أوروبا	نادرة جداً	نادرة جداً	غائبة	سائدة
شبه القارة الهندية	شائعة	نادرة	نادرة جداً	سائدة
الهند الصينية	سائدة	نادرة	نادرة	شائعة
إندونيسيا	سائدة	نادرة جداً	نادرة جداً	شائعة
مَدَغَشْقَر والمحيط الهندي	سائدة	نادرة	نادرة	شائعة
جزر الباسيفي	سائدة	نادرة جداً	نادرة	شائعة

هذا وإن التوزع الجغرافي لهذه الأنواع ملخص في الجدول 10.4.

استعراف أنواع المتصورة في أفلام الدم

تُكشف طفيليات الملاريا عادةً في أفلام الدم الملونة بملونات فيلد أو غيمزا. وقد تم حديثاً تطوير إجراءات مناعية لكشف مستضدات المتصورة في الدم البشري بطريقة الغميسة، وقد جُرِّبَت هذه الطريقة ميدانياً فأثبتت الاختبارات أنها وافية بالمراد؛ وهذه الإجراءات موصوفة في الفقرة 9.11.

من المهم لتحديد إنذار ومعالجة المرض أن تُسْتَعْرَف (تُعَيَّن هوية) الأنواع المسؤولة في المختبر، وإذا لم يكن بالامكان تعيين هوية النوع فيجب دائماً أن يُذكر في التقرير وجود أي طفيلي مشاهد من طفيليات الملاريا. ويجب عدم الخلط بين الصفيحات المتراكبة على الكريات الحمراء وبين طفيليات الملاريا.

تحضير فيلم ثخين وفيلم رقيق من أجل الفحص المجهري على شريحة واحدة

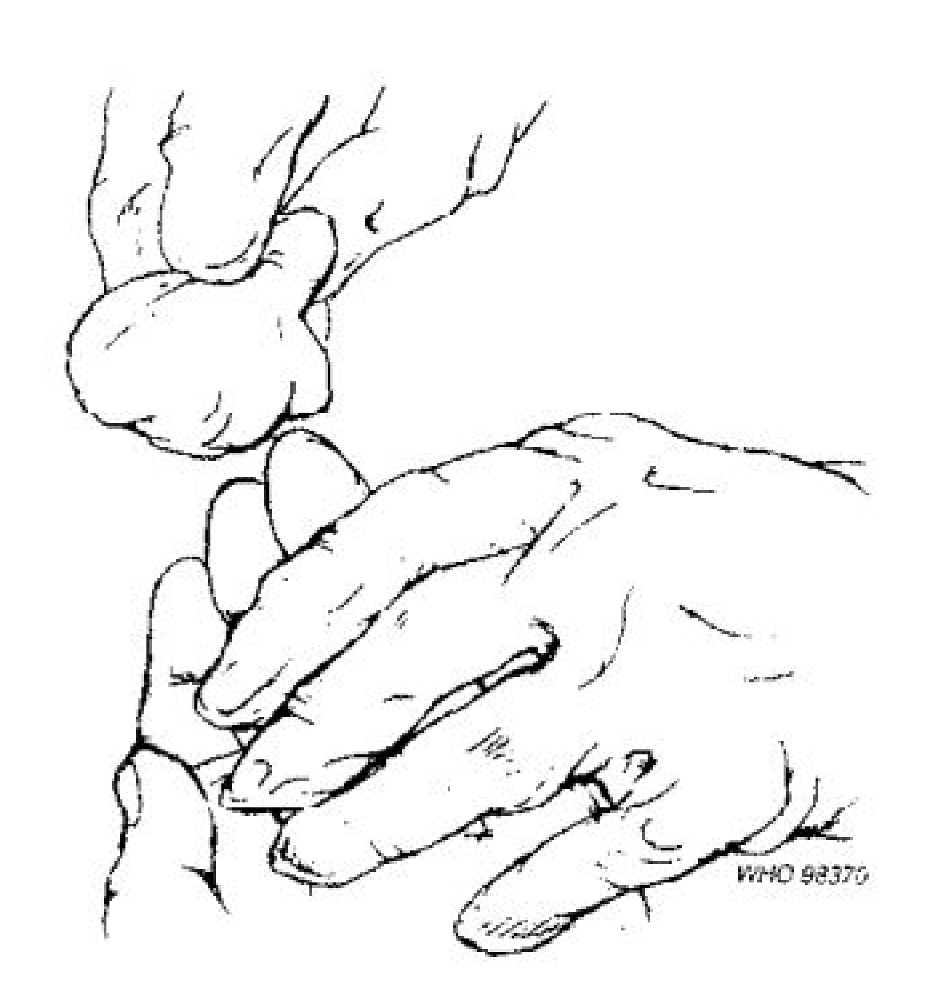
للفحص المجهري الروتيني للملاريا يُحَضَّر فلم رقيق وفيلم ثخين على الشريحة ذاتها، حيث يُستعمل الفلم الثخين لكشف الطفيليات أما الفلم الرقيق فيستعمل لاستعراف أنواع الطفيلي إذا لزم.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية زجاجية نظيفة (الفقرة 1.5.3).
- واخزات دموية معقمة.
- ميثانول.
- قلم شمعي.
- ميثانول
- قطن.

الطريقة

يؤخذ الدم المراد فحصه لتحري طفيليات الملاريا في مركز صحي عادةً، والوقت الأكثر ملاءمةً لأخذه هو عند ذروة نوبة الحمى حيث تكون الطفيليات أكثر عدداً في الدم، ويجب دوماً أخذ نماذج الدم قبل إعطاء مضادات الملاريا.



الشكل 130.4. تنظيف الإصبع قبل أخذ عينة من الدم الشعيري.



الشكل 131.4. استعمال واخزة لوخز رأس الإصبع.

1. يوجه المريضُ راحةَ يده اليسرى إلى الأعلى، وتُنْتَقى الإصبع الثالثة (الوسطى) أو الرابعة (الخنصر) (يمكن استعمال الإصبع الكبير للقدم لدى الرضع، ويجب ألا يستعمل إبهام اليد أبداً لدى البالغين أو الأطفال). تُستخدم قطعة قطنية مغموسة قليلاً في الإيثانول لتنظيف الإصبع بمسحها جيداً لإزاله أيه أوساخ أو دهن من رأس الإصبع (الشكل 130.4)، ثم تُجفف الإصبع بقطعة نظيفة من القطن (أو الكتان).
2. يوخز رأس الإصبع بواخرة معقمة (الشكل 131.4) بحركة سريعة، ثم يطبق ضغط خفيف على الإصبع وتعتصر القطرة الأولى من الدم وتُمسح بقطن جاف، مع التأكد من عدم بقاء أي من طِيْقان (خيوط) القطن على الإصبع.
3. يُجرى العمل بسرعة وتُمْسَك الشرائح النظيفة من حافاتها فقط، ويؤخذ الدم كما يلي:

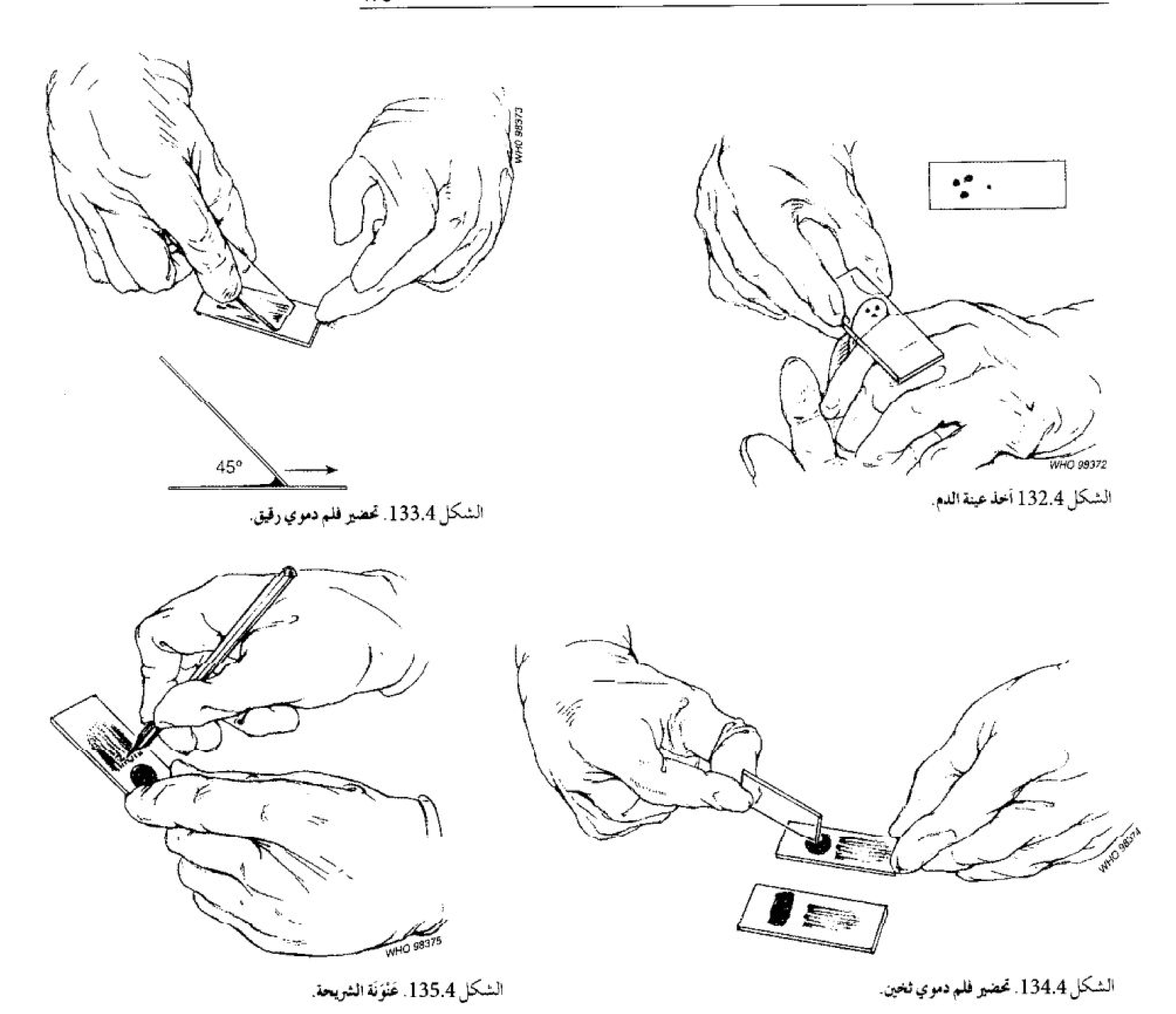
- يُطبق ضغط خفيف على الإصبع وتؤخذ قطرة صغيرة واحدة من الدم على منتصف الشريحة، حيث تُستعمل لتحضير الفلم الرقيق.
- يطبق الضغط من جديد لاعتصار المزيد من الدم وتؤخذ 2 أو 3 قطرات كبيرة من الدم على الشريحة على بعد حوالي 1 سم من القطرة المُعَدّة لتحضير الفلم الرقيق (الشكل 132.4).

يُمْسح الدم الباقي بقطعة من القطن.

4. الفلم الرقيق: توضع الشريحة الحاملة لقطرات الدم على سطح منبسط راسخ، وتُستعمل شريحة نظيفة أخرى "فارِشَة" فتُمَسّ القطرة الصغيرة بهذه الفارشة ويُترك الدم ليمتد على طول حافتها، ثم تُدْفَع الفارشة على طول الشريحة على نحو ثابت بعيداً عن القطرات الكبيرة مع المحافظة عليها بزاوية °45 (الشكل 133.4). يجب التأكد من أن الفارشة بتماس تام مع سطح الشريحة طوال الوقت الذي يُفرش الدم خلاله.
5. الفلم الثخين: تُمسك الشرائح من حافاتها دائماً أو من زواياها لتحضير فلم ثخين كما يلي:

تُستعمل زاوية الفارشة لتُضَمّ قطرات الدم الكبيرة بسرعة، وتُفرش هذه القطرات لعمل فلم ثخين منتظم (الشكل 134.4).

6. يُترك الفلم الثخين ليجف في وضع منبسط مستوٍ محمياً من الذباب والغبار والحرارة المفرطة، ثم يُعَنْوَن الفلم الجاف بقلم شمعي بكتابة اسم أو رقم المريض والتاريخ عبر القسم الأثخن للفلم الرقيق (الشكل 135.4).



الشكل 132.4 أخذ عينة الدم.

الشكل 133.4. تحضير فلم دموي رقيق.

الشكل 134.4. تحضير فلم دموي ثخين.

الشكل 135.4. عَنْوَنة الشريحة.

تلوين أفلام الدم بملون غيمز

المبدأ

أثناء تلوين الدم ينحل الهيموغلوبين الموجود في الكريات الحمر (إزالة الهيموغلوبين) ويُزال بالماء الموجود في محلول التلوين، وكل ما يتبقى هو الطفيليات والكريات البيض التي يمكن أن تُرى تحت المجهر.

المواد والكواشف

- مجهر
- اسطوانات مدرجة سعة 10 و 50 و 100 مل.
- دوارق سعة 50 و 250 مل.
- تُرَف التلوين.
- قضبان زجاجية.
- قارورة غاسلة.
- مِلْقَط للشرائح.
- رَفْرَف للشرائح.

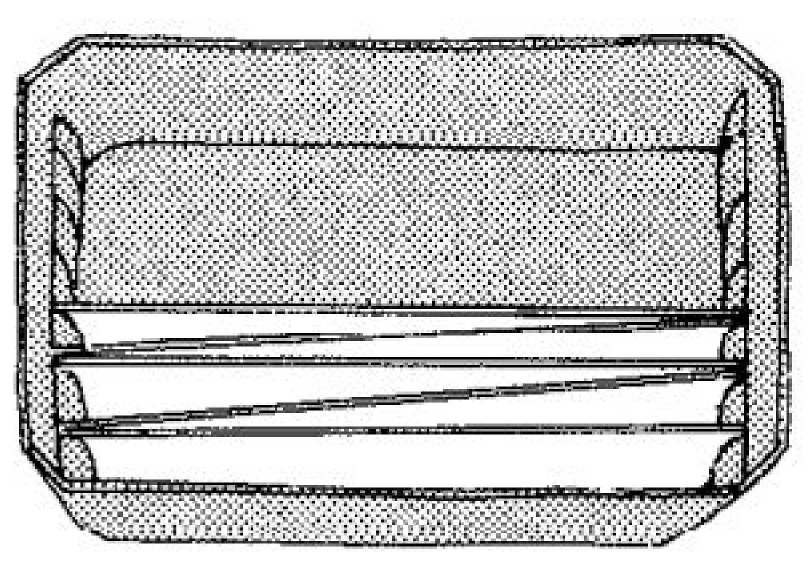
- مؤقت.
- ملون غيمزا (الكاشف رقم 29).
- ميثانول في قارورة قَطّارَة.
- ماء مدروء ذو باهاء 7.2 (الكاشف رقم 15) أو ماء مقطر.

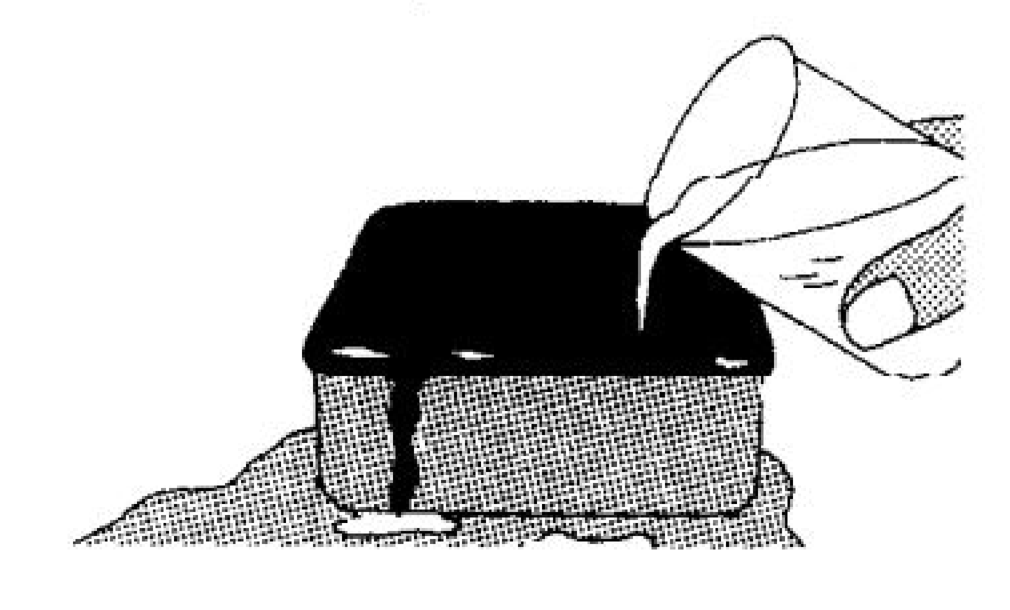
الطريقة الاعتيادية لتلوين أفلام الدم الثخينة والرقيقة على الشريحة ذاتها

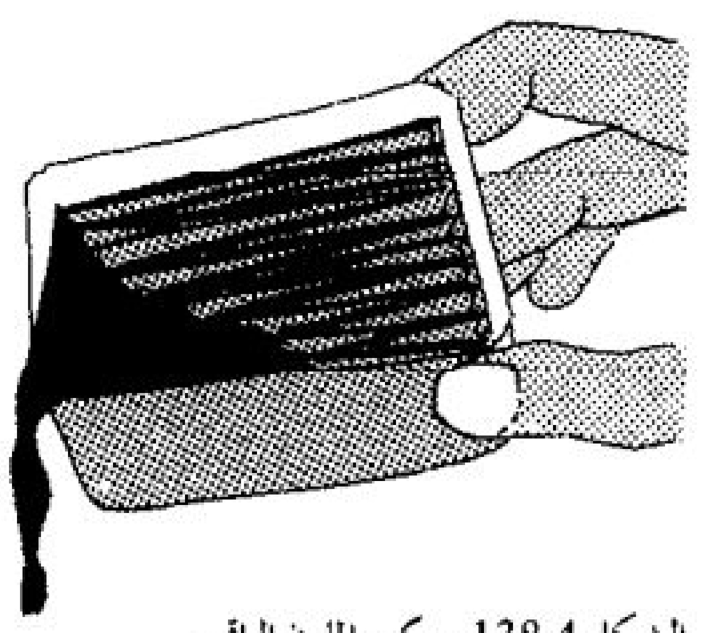
من ناحية مثالية ومن أجل التلوين الأمثل يجب أن تُهَيَّأ الأفلام الثخينة والرقيقة على شرائح منفصلة، وهذا غير ممكن غالباً وبذلك تُهيأ الأفلام الثخينة والرقيقة علـى الشريحة ذاتها عموماً، وعند إجراء ذلك فإن التلوين الجيد النوعية للفلم الثخين يكون ذو أهمية رئيسية. يتم الحصول على أفضل النتائج إذا ما جُفِّفت أفلام الدم طوال الليل.

هذه الطريقة مناسبة لتلوين 20 شريحة أو أكثر.

1. يُثَبَّت الفلم الرقيق بإضافة 3 قطرات من الميثانول أو بغمسه في إناء للميثانول لعدة ثوانٍ. قد يكون من الصعب كشف نقاط شوفنر وفُلوح ماورر (نقاط ماورر) إذا ما أجري التثبيت لفترة طويلة، وللسماح بإزالة الهيموغلوبين يجب ألا يُثَبَّت الفلم الثخين، ولذلك يجب تجنب تعرض الفلم الثخين للميثانول أو بخاره.
2. باستعمال الملقط توضع الشرائح خلف بعضها البعض في ترفة التلوين (الشكل 136.4).
3. يُحضر محلول غيمزا 3% في الماء المدروء أو المقطر –الباهاء 7.2- pH بكمية كافية لملء عدد كافٍ من ترف التلوين المستعملة. يُمزج الملون جيداً.
4. يُصَبّ المُلَوّن في ترفة التلوين بلطف إلى أن تُغطى الشرائح كلياً، ويُجرى التلوين لمدة 30–45 دقيقة بعيداً عن ضوء الشمس.
5. يُصب الماء النظيف بلطف في الترفة لإزالة الراسب من على سطح محلول التلوين (الشكل 137.4).
6. يُسْكَب الملون الباقي بلطف (الشكل 138.4)، ويُجرى الشطف من جديد بالماء النظيف لعدة ثوانٍ، ثم تُسكب الماء.


الشكل 136.4. وضع الشرائح في ترفة التلوين.


الشكل 137.4. صب الماء النظيف في ترفة التلوين لإزالة الراسب.


الشكل 138.4. سكب الملون الباقي.

في بعض المختبرات ذات التجهيزات المحدودة يُعاد استعمال ملون غيمزا المُخَفَّف، وفي هذه الحالات يجب أن يُستعمل في نفس اليوم.

7. يُستعمل الملقط لرفع الشرائح واحدةً فواحدة، ثم توضع على رفرف للشرائح لتُسْتَنْضَب وتجف –والوجه المحتوي على الفلم متجه للأسفل– مع التأكد من أن الفلم لا يمس رفرف الشرائح.

الطريقة السريعة لتلوين أفلام الدم الثخينة والرقيقة على الشريحة ذاتها

هذه الطريقة مناسبة لتلوين أفلام الدم بسرعة عندما تكون النتائج المستعجلة مطلوبة، وهي تستعمل كمية من الملون أكبر بكثير مما في الطريقة النظامية.

1. يُترك الفلم الثخين ليجف تماماً، وإذا كانت النتائج مطلوبة بشكل مستعجل يمكن أن يُسَرَّع الجفاف باستعمال المروحة أو تعريض الشريحة قليلاً لحرارة لطيفة كالحرارة الناجمة عن مصباح المجهر مثلاً. ويجب الانتباه جيداً لتجنب فرط التسخين وإلا فإن الفلم الثخين سيثبت بالحرارة.
2. يُثبت الفلم الرقيق بإضافة 3 قطرات من الميثانول أو بغمسه في إناء للميثانول لعدة ثوانٍ. وللسماح بإزالة الهيموغلوبين يجب ألا يُثَبَّت الفلم الثخين، ولذلك يجب تجنب تعرض الفلم الثخين للميثانول أو بخاره.
3. يُحضر محلول غيمزا 10% في الماء المدروء أو المقطر، الباهاء PH 7.2؛ وإذا كانت ستُستعمل كمية صغيرة فإن 3 قطرات من الملون بكل 1 مل من الماء المدروء تعطي تركيزاً مناسباً لمحلول غيمزا، علماً أن الشريحة الواحدة تحتاج إلى نحو 3 مل من الملون المُحَضَّر. يمزج الملون جيداً بقضيب زجاجي.
4. يُصب الملون بلطف على الشرائح أو يُستعمل ممص لذلك. ويمكن بدلاً من ذلك وضعُ الشرائح - والوجه المحتوي على الفلم متجه للأسفل- في طبق تلوين مُقَعَّر وإدخالُ الملون تحت الشرائح. يُجرى التلوين لمدة 5-10 دقائق.
5. يُغسل الملون ويُزال عن الشرائح بإضافة قطرات من الماء النظيف، ولا يُقْلَب الملون ثم يُغسل لأن ذلك سيترك راسباً من الطُفاحَة scum على اللطاخات.
6. توضع الشرائح على رفرف للشرائح لتُسْتَنْضَب وتجف -والوجه المحتوي على الفلم متجه للأسفل- مع التأكد من أن الفلم لا يمس رفرف الشرائح.

تلوين أفلام الدم بملون فيلد

يسمح التلوين بملون فيلد بالكشف السريع لطفيليات الملاريا (ولكنه لا يلون دائماً نقاط شوفنر).

المواد والكواشف

- مجهر
- مرطبانات زجاجية
- رَفْرَف للشرائح
- ميثانول.
- ملون فيلد (الكاشف رقم 25).
- ماء مدروء، الباهاء PH 7.2 (الكاشف رقم 15).

طريقة تلوين الأفلام الثخينة

1. يُغمس الفلم غير المثبت في مرطبان يحتوي على محلول ملون فيلد أ لمدة 3 ثوانٍ.
2. يُغسل بلطف بغمسه (مرة واحدة) في مرطبان للماء النظيف لمدة 5 ثوانٍ.
3. تُغمس الشريحة في مرطبان يحتوي على محلول ملون فيلد ب لمدة 3 ثوانٍ.
4. تغسل الشريحة بلطف كما في الخطوة 2.
5. توضع الشريحة قائمة في رفرف الشرائح لتجف في الهواء.

طريقة تلوين الأفلام الرقيقة

1. يُثبت الفلم في الميثانول لمدة دقيقة واحدة.
2. يُغسل الميثانول ويزال بالماء المدروء.
3. يُستعمل ممص لتغطية الفلم بملون فيلد ب المُخَفَّف (حجم واحد من الملون + 4 حجوم من الماء المدروء).
4. يُضاف فوراً حجم مساوٍ من محلول ملون فيلد أ ويُمزج جيداً لتلوين الشريحة.
5. تُترك الشريحة لتتلون لمدة دقيقة واحدة.
6. يُغسل الملون ويُزال بالماء النظيف.
7. توضع الشريحة قائمةً في رفرف للاستنضاب لتجف في الهواء.

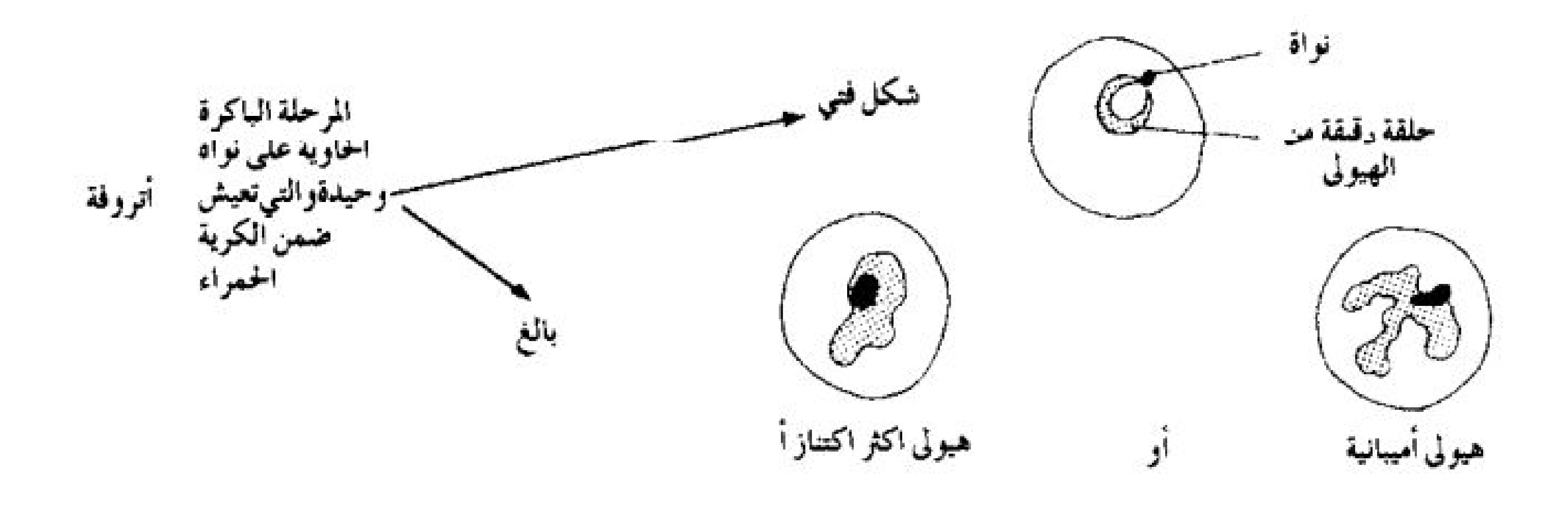
الفحص المجهري

يتم باستخدام الشيئية x100 . إن طفيليات الملاريا تشاهد في الدم بمراحل مختلفة من التطور (الشكل 139.4). بعض الطفيليات لديها حبيبات صباغية ضمن الهيولى.

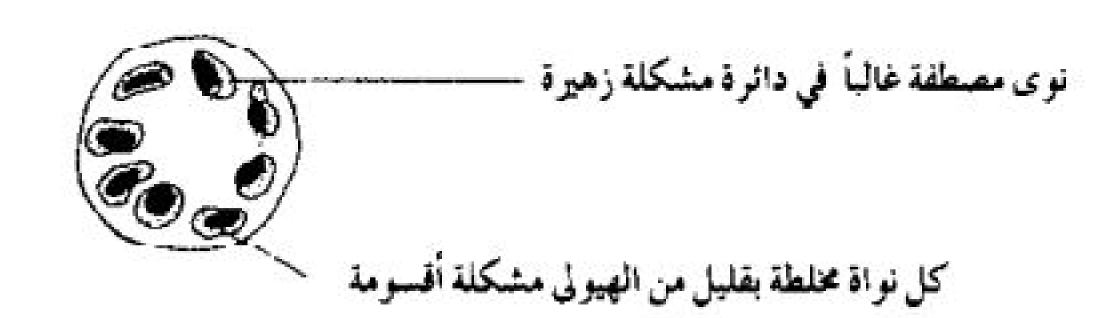
أفلام الدم الرقيقة

في أفلام الدم الرقيقة يمكن أن تبقى الكريات الحمر المصابة بالعدوى دون تغير أو يكون لها لون أو شكل مختلف أو قد تحتوي على نقاط وردية (شوفنر) أو حمراء (جيمس) (الجدول 11.4). يمكن استخدام الأفلام الرقيقة لكشف طفيلي الملاريا (الجدول 12.4).

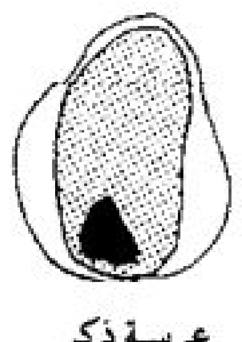
مراحل التطوّر

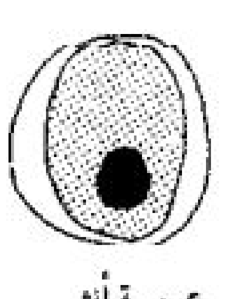


المتقسمة
أتروفة ناضجة تحوي نواة مقسمة إلى 8–24 نواة تملأ أغلب الكرية الحمراء



عرسية
الشكل الجنسي الحاوي على النواة مكتنزة كبيرة دائرية أو مطاولة

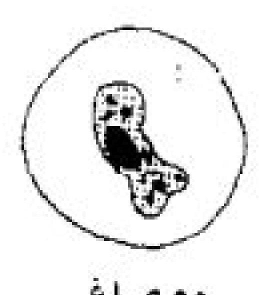


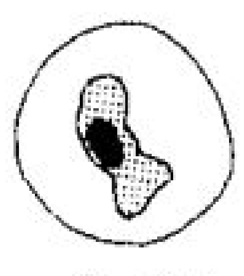


عرسية ذكر عرسية أنثى

الشكل 139.4 . مراحل تطور طفيلي الملاريا.

الصباغ
في بعض الطفيليات توجد حبيبات صباغية في الهيولى ، وفي بعضها لاتوجد





مع صباغ دون صباغ

الشكل 140.4. طفيليات الملاريا الحاوية على صباغ.

الجدول 11.4 مقارنة الكريات الحمر المصابة بالعدوى في أفلام الدم الرقيقة.

	المتصورة المنجلية	المتصورة الوبالية	المتصورة النشيطة	المتصورة البيضوية
حجم الأتروفة الفتية مقارنة مع قطر كرية حمراء (في نفس دور النماء)	خمس إلى ثلث القطر	ربع إلى ثلثي القطر	ربع إلى ثلثي القطر	ربع إلى ثلثي القطر
مظهر الكرية الحمراء المصابة بالعدوى	تبقى غير متبدلة	تبقى غير متبدلة أو تصبح أصغر وأحياناً أعمق تلوناً	متضخمة وغالباً شاحبة التلون	متضخمة بيضوية مع حواف متمزقة مشرشرة
النقاط في الكرية الحمراء المصابة بالعدوى	لا توجد غالباً [أ]	لا توجد	نقاط وردية صغيرة (نقاط شوفنر)	نقاط حمراء كبيرة (نقاط جيمس) موجودة دائماً
الأدوار الموجودة (أنظر الشكل 4. 139)	الأتاريف أو العرسيات أو كلاهما معاً؛ قد توجد عدة أتاريف في كرية واحدة	كل الأدوار موجودة في نفس الفلم	كل الأدوار موجودة في نفس الفلم	كل الأدوار موجودة في نفس الفلم

[أ] في بعض الكريات الحمراء المصابة بالعدوى بالأتاريف الكهلة للمتصورة المنجلية قد توجد حبيبات وردية كبيرة قليلة ("فُلوح أو نقاط ماوِرَر").

ملاحظة: لدى المرضى الذين عانوا من الملاريا لزمن طويل يمكن أن تُشاهد الوحيدات في فلم الدم الرقيق، وغالباً ما تحتوي الهيولى على أجسام بنية أو سوداء مخضرة (أليفات الحديد). ولدى المرضى الذين تلقوا حديثاً حقنة من دواء مضاد للملاريا تتلون الطفيليات بشكل ضعيف وتبدو مشوهة وغير مميزة.

أفلام الدم الثخينة

في الفلم الثخين يجب أن تكون الخلفية صافية وخالية من الحُطام، والكريات الحمر المصابة بالعدوى منحلة، كما يجب أن تكون طفيليات الملاريا ذات كروماتين أحمر قاتم وهيولى زرقاء أرجوانية شاحبة. بتلوين الغمزا تكون نوى الكريات البيض ملونة بلون أرجواني واضح قاتم. يمكن أن يكون تَرَقُّط **stippling** شوفنَر ظاهراً حول طفيلي الملاريا.

تستخدم أفلام الدم الثخينة لتقدير كثافة الطفيلي، كما ذكر أدناه.

كثافة الطفيلي

كثافة الطفيلي هي عدد الطفيليات المعدودة في كل ساحة مجهرية، وهي تختلف عادةً بحسب النوع.

يمكن استعمال طريقتين لعدّ طفيليات الملاريا في أفلام الدم الثخينة: تعيين عدد الطفيليات بمكرولتر (مكل) واحد من الدم، وجملة علامات الجمع (إشارات +).

الجدول 12.4 استعراف الأنواع الأربعة لطفيليات الملاريا في الأفلام الدموية

	المتصورة المنجلية		المتصورة الوبالية	
الأتروفة الفتية	(دور موجود كثيراً) الهيولى: حلقة رقيقة صغيرة زرقاء شاحبة. الكروماتين: نقطة حمراء صغيرة أو اثنتان.		(دور موجود كثيراً) الهيولى: حلقة ثخينة كثيفة زرقاء مع بعض الحبيبات من الصباغ الأسود. الكروماتين: نقطة حمراء كبيرة واحدة.	
الأتروفة الناضجة	(دور موجود كثيراً) الهيولى: حلقة زرقاء أقرب إلى الرقة أو بشكل الضمة أو علامة التعجب. الكروماتين: نقطة حمراء أو اثنتان متوسطتا الحجم.		(دور موجود كثيراً) الهيولى: إما (أ) مدورة مكتنزة زرقاء قاتمة مع كثير من جسيمات الصباغ السوداء، وإما (ب) بشكل شريط (في الأفلام الرقيقة فقط). الكروماتين: نقطة مدورة أو شريط أحمر.	a أ b ب
المتقسمة	(نادرة جداً) ندر أن كُشفت في الأفلام الدموية (فيما عدا الحالات الشديدة جداً) الأقاسيم: 18–32. الصباغ: بلون أسود بني قاتم.		(توجد باعتدال) الأقاسيم: 8–10 حبيبات حمراء كبيرة محاطة بهيولى شاحبة ومصفوفة بشكل غير منتظم (الشكل الفتى) أو بشكل وردة. الصباغ: يُرى دائماً.	
العرسية	(تشاهد باعتدال) الشكل: كالموزة أو المنْجَل. اللون: أزرق، (الذكر) أو أزرق كثيف (الأنثى). النواة: حمراء وردية. الصباغ: حبيبات زرقاء مسودة قليلة في وسط الهيولى أو مبعثرة خلالها.		(تشاهد باعتدال) الشكل: كبيرة بيضاوية أو مدورة. اللون: أزرق شاحب (الذكر) أو أزرق كثيف (الأنثى). النواة: النواة بقعة مدورة واحدة من الكروماتين الأحمر بقرب إحدى الحوافي. الصباغ: حبيبات سوداء كبيرة في الهيولى.	
الكريات الحمر	سوية في حجمها. قد تبدو كريات مُفَرَّضة تحتوي على أتاريف ناشبة، كما تحتوي غالباً على بضع نقاط حمراء غير منتظمة الحجم ولا الشكل.		سوية في حجمها وشكلها. لا ترى نقاط حمراء عادةً.	
كثافة الطفيلي ب	تغلب أن تكون كثافة عالية جداً.		كثافة منخفضة.	

أ ينبغي تأكيد هوية المتصورة البيضوية بفحص فلم دموي رقيق.

ب تتوقف كثافة الطفيلي في أي منطقة بشكل رئيسي على كون الملاريا فصلية أو مُتَوَطِّنة، فالكهول خاصة يكتسبون مناعة في المناطق المُوْطونة وتكون كثافة الطفيلي منخفضة غالباً.

1. تعيين عدد الطفيليات/مكل من الدم: يُنْجَز بعَدّ عدد الطفيليات بالنسبة إلى عدد معياري من كريات الدم البيضاء/مكل هو (8000). في أول الأمر يُفحص فلم الدم لتحري وجود أنواع طفيليات الملاريا وأدوار نمائها؛ ثم يُستعمل رَقيمان عدادان أحدهما لعد الكريات البيضاء والآخر لعد الطفيليات ويُتَّبع أحد هذين الإجرائَيْن:

الجدول 12.4. تابع.

	المتصورة النشيطة		المتصورة البيضوية أ	
الأتروفة الفتية	(دور موجود كثيراً) الهيولى: حلقة زرقاء غير منتظمة ثخينة جداً. الكروماتين: نقطة حمراء واحدة أقرب إلى الكبَر.		الهيولى: حلقة زرقاء كثيفة منتظمة. الكروماتين: نقطة حمراء واحدة متوسطة الحجم.	
الأتروفة الناضجة	(دور غير موجود كثيراً) الهيولى: كبيرة زرقاء غير منتظمة (أحياناً مقسمة إلى 2 أو 3 أو 4)؛ جسيمات صغيرة من صباغ بني برتقالي. الكروماتين: نقطة حمراء واحدة.		الهيولى: مدورة مكتنزة زرقاء جداً مع بعض جسيمات من الصباغ البني. الكروماتين: نقطة حمراء واحدة كبيرة.	
المتقسمة	(يكثر وجودها) الأقاسيم: 12–18 حبيبة حمراء كبيرة مكتنزة محاطة بهيولى زرقاء شاحبة.		الأقاسيم: 8–14 حبيبة حمراء كبيرة تصطف بشكل وردة حول كتلة مركزية من جسيمات من الصباغ البني.	
العرسية	(موجودة كثيراً) الأنثى: بيضوية أو مدورة، زرقاء كثيفة. توجد غالباً نواة مثلثية حمراء كثيفة في إحدى النهايتين، كما توجد كثير من جسيمات الصباغ البرتقالي في الهيولى. الذكر: مدور أزرق شاحب. ترى نواة مدورة مركزية حمراء شاحبة، كما ترى بعض جسيمات الصباغ البرتقالي في الهيولى.		الشكل: كبيرة بيضاوية أو مدورة زرقاء كثيفة. النواة: بقعة حمراء واحدة مدورة. الصباغ: جسيمات بنية قليلة في الهيولى. تتميز من: المتصورة النشيطة بصباغها البني. المتصورة الوبالية بوجود نقاط شوفنر.	
الكريات الحمر	متضخمة، وغالباً شاحبة التلون. نقاط شوفنر، وخصوصاً حول الأتاريف الناضجة.	انظر الجدول 11.4	قد تبدو بيضوية مع نهايات مشرشرة. نقاط جيمس الحمراء الكبيرة المرئية بسهولة.	
كثافة الطفيلي	كثافة متوسطة.		كثافة متوسطة.	

(I) إذا وُجد 10 طفيليات أو أكثر بعد عد 200 كرية بيضاء تُسَجَّلُ النتائج على استمارة التسجيل مُقَدَّرَةً بعدد الطفيليات/200 كرية بيضاء؛

(II) إذا كان عدد الطفيليات 9 أو أقل بعد عد 200 كرية بيضاء يُسْتَمَرُّ بالعد حتى الوصول إلى 500 كرية بيضاء ثم يُسجل عدد الطفيليات/500 كرية بيضاء.

بعد الإجراء (I) أو (II) تُستعمل صيغة رياضية بسيطة فيُضرب عدد الطفيليات بـ 8000 ثم يُقسَّم الرقم الحاصل على عدد الكريات البيضاء (200 أو 500) فيكون الناتج هو عدد الطفيليات/مكل من الدم. من أصول الممارسة السويه أن نُعدّ كل الأنواع الموجوده وأن تُعد وتُسجل بشكل منفصل عِرْسِيَّات gametocytes المتصورة المنجلية والطفيليات غير الجنسية، وهذا ملاحظة هامة خصوصاً عند مراقبة الاستجابة للأدوية المبيدة للمُتَقَسِّمات التي لا يُتَوَقَّع أن يكون لها أي تأثير على العرسيات.

(عدد الطفيليات المعدودة × 8000/عدد الكريات البيضاء) = عدد الطفيليات/مكل من الدم

مثال:

إذا كانت الكريات البيضاء المعدودة 200:

(50 طفيلي×200/8000 كرية بيضاء)= 2000 طفيلي/مكل من الدم

إذا كانت الكريات البيضاء المعدودة 500:

(5 طفيليات×500/8000 كرية بيضاء)= 80 طفيلي/مكل من الدم

2. هناك طريقة أبسط لعد الطفيليات في أفلام الدم الثخينة هي استعمال جملة إشارات +، وهذه الجملة أقل قبولاً – على أية حال – ويجب أن تُستعمل فقط عندما لايكون من الممكن إجراء طريقة عد الطفيليات/ مكل من الدم الأكثر قبولاً، ويُستعمل في هذه الجملة راموز code ما بين إشارة واحدة وأربع إشارات من إشارات+:

+ = 1–10 طفيليات بكل 100 ساحة للفلم الثخين

++ = 11–100 طفيلي بكل 100 ساحة للفلم الثخين

+++ = 1–10 طفيليات بساحة واحدة للفلم الثخين

++++ = أكثر من 10 طفيليات بساحة واحدة للفلم الثخين.

للذكرى: تُستعمل شرائح نظيفة وأفلام ثخينة محضرة جيداً وملونة جيداً من أجل الاستعراف الصحيح وعد الطفيليات المُعَوَّل عليه.

ملاحظة: إن المرضى الذين تكون كثافة الطفيليات لديهم مرتفعة جداً (أكثر من 10 طفيليات بساحة واحدة للفلم الثخين) يحتاجون لمعالجة مستعجلة، ولذلك عند كشف كثافة مرتفعة للطفيلي تُذْكَر النتيجة بشكل واضح في التقرير وترسل فوراً إلى طبيب المريض.

تسجيل النتائج

إذا كانت نتيجة فحص أفلام الدم الملونة إيجابية، يُعَيَّن:

– نوع الطفيلي الموجود؛

– دور نماء الطفيلي؛

– كثافة الطفيلي.

إن أفلام الدم المحتوية على المتصورة البيضوية والمتصورة النشيطة قد لا تحتوي سوى على القليل من الطفيليات ولذلك تحتاج لوقت أطول للفحص بالمجهر، بَيْدَ أنه من الضروري تمييز النوعين إذ أنهما يمكن أن يعاودا الظهور في الدم دون عودة العدوى. يحتاج المرضى المصابون بعدوى المتصورة البيضوية أو المتصورة النشطة إلى معالجة إضافية لاستئصال الأدوار الكبدية لهذه الطفيليات.

يمكن أن يؤوي المريض أكثر من نوع واحد من طفيليات الملاريا في الوقت ذاته (مثلاً: المتصورة المنجلية والمتصورة الوَبالِيَّة أو المتصورة المنجلية والمتصورة النشيطة).

إذا كانت النتيجة سلبية فتُسجل "لم تُكْشَف طفيليات".

3.7.4 داء المِثْقَبِيّات trypanosome spp.

يحدث داء المثقبيات في جنوبي وغربي إفريقيا حيث يُعْرَف باسم مرض النوم، وفي أمريكا الوسطى والجنوبية حيث يُدعى داء شاغاس.

داء المثقبيات الإفريقي

يحدث داء المثقبيات الإفريقي بثلاثة أدوار:

- الطور الحاد؛
- طور وجود الطفيليات في الدم؛
- الطور العصبي.

بعد 2 أو 3 أيام من لدغة ذبابة التسي تسي المُصابَة بالعدوى تظهر قَرْحَة في موضع الحقن، وتختفي خلال 2–3 أسابيع. تغزو المثقبياتُ مجرى الدم من موضع القرحة ويعاني المريض من حمى متقطعة وغير منتظمة، وتكون الأعراض الأكثر شيوعاً للدور الأول أو الحاد هي الصداع، والأرَق، وألم في المفاصل والعقد اللمفية الخلفيـة للرقبة، وتورم الأجفان والمفاصـل، وفقد الوزن والحكة الشـديدة المعممة وخاصـةً في منطقة عظم القص. ويسـبب غزوُ الجهاز العصـبي المركزي التَهَيُّجِيَّةَ، والمَذَل، والأرق، وأخيراً الصـداع الشـديد ونَعَيُّم الرؤية، بالإضافة إلى النوب الصرعية، والظواهر الذُهانِيَّة، والنُعاس، والتُوام النفسي والغيبوبة.

لداء المثقبيات الناجم عن المثقبية البروسية الغامْبِيَّة مسـاقٌ بطيء ومزمن، إذ يمكن أن تمر أسـابيع أو أشهر بين الدورين الأول والثاني وقد تنقضـي أشهر أو سـنوات بين الدورين الثاني والثالث. ويَتَّبع داء المثقبيات الناجم عن المثقبية البروسية الروديسية مساقاً أكثر حدة وتكون الأدوار أقل وضوحاً، وقد يسبب الموت خلال أشهر قليلة، كما تكون المضاعفات القلبية أكثر تواتراً في داء المثقبيات الناجم عن المثقبية البروسية الروديسية ويموت بعض المرضى قبل الوصول إلى الدور العصبي.

مصادر العدوى وطُرُز الانتقال

ينتقل داء المثقبيات الإفريقي بذباب التسي تسي tsetse (أنواع اللاسِنَة Glossina) ويكون البشر هم المستودع الرئيسي للعدوى، وقد تؤوي الخنازيرُ والكلاب وربما أنواع حيوانية أخرى الطفيليَّ ولكن دورها في نشر المرض يكون ثانوياً.

تحدث السراية عندما يبتلع ذباب التسي تسي دمَ البشر أو الحيوانات المصابة بالعدوى.

فحص رشافات العقد الرقبية لتحري المثقبيات البروسية الغامْبِيَّة والروديسية

تشاهد المثقبيات في العقد اللمفية في الطور المبكر، خلال 2–3 أسابيع من العدوى، و تختفي من العقد بعد 2–6 أشهر. وفي الطور المتأخر قد تصيب بالعدوى الجملة العصبية المركزية.

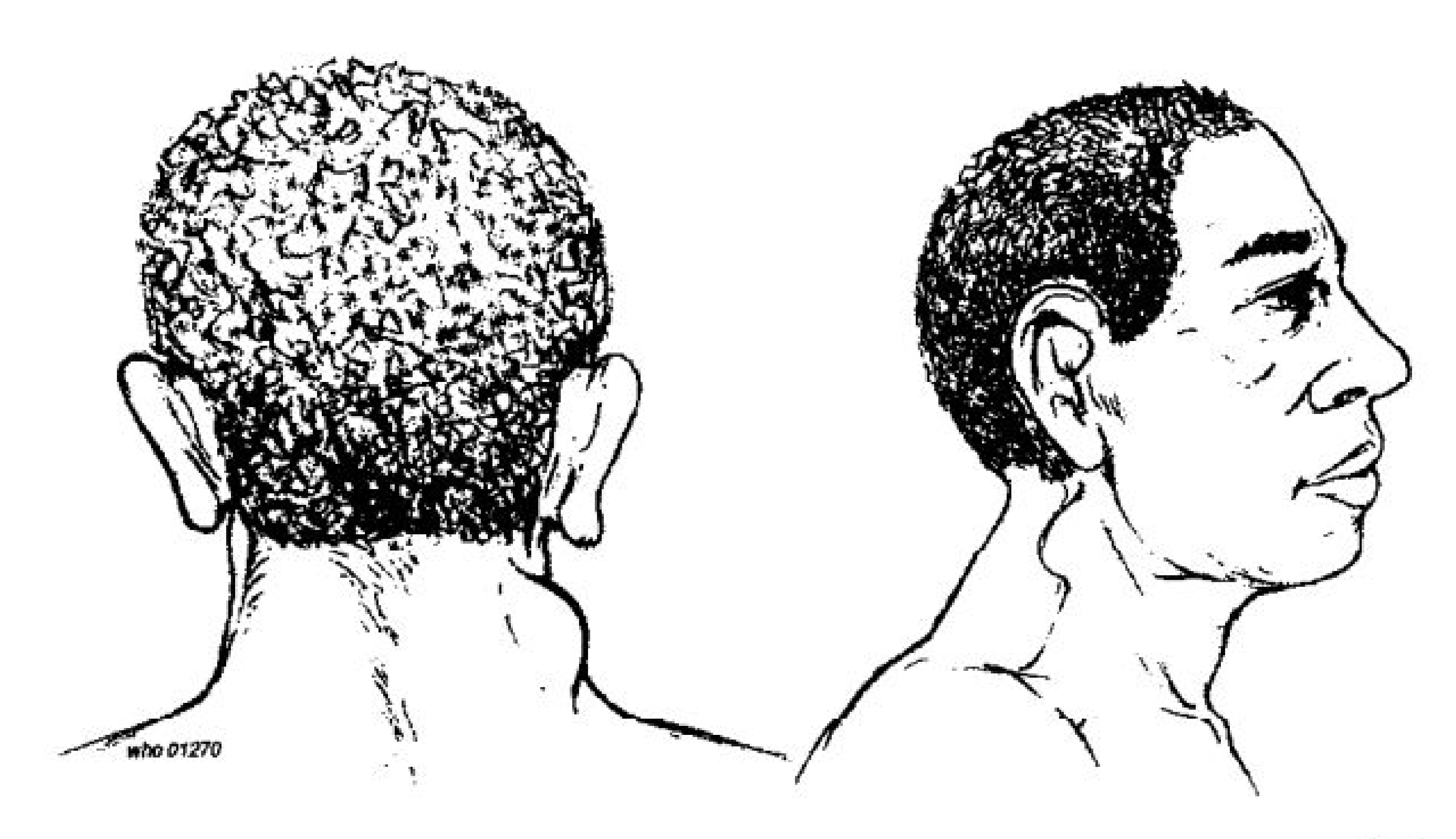
إن الطريقة المعيارية لتشخيص داء المثقبيات الإفريقي في الطور المبكر هي البحث عن المثقبيات في الرُّشافات المأخوذة من العقد اللمفية الرقبية المتضخمة.

المبدأ

تؤخذ قطرة من السـائل من العقدة اللمفية بواسـطة إبرة وتفحص على الفور كمُحَضَّر رطب، فتَسْـهُل رؤية المثقبيات تلك الحيوانات الأوالي المتحركة ذوات السياط تحت المجهر.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح.
- ساترات
- إبرة (للحقن الجلدي) من مَقاس 25 ج.
- محقنة بسعة 5 أو 10 مل (كِلا المحقنة والإبرة يجب أن تكون جافة تماماً).
- صبغة اليود.
- إيتانول 70%.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).



الشكل 141.4. إيجاد العقدة اللمفية المصابة بالعدوى بالمثقبيات.

الطريقة

إيجاد العقدة اللمفية

توجد العقد اللمفية المبحوث عنها ضمن سلسلة العقد الرقبية الموجودة في العُنُق، وينبغي تَلَمُّس كلا الجانبين الأيمن والأيسر للعنق من أسفل الرقبة إلى الأذنين.

تكون العقد المصــابة وارِمَة وتؤلف كتلة مدورة بقطر 2–4 ســم (الشكل 141.4)، وهي مرنة وتنزلق تحت الجلد، وتُبْدي مقاومة قليلة للضغط، ولا تصبح قاسية (فيما عدا الحالات المزمنة).

أخذ العينات

1. يُطلب إلى المريض أن يجلس، ويُطَهَّر الموضع المُنتقى على العنق بالإيثانول.
2. تُمسَك العقدة اللمفية باليد اليسرى بين الإبهام والسبابة بحيث تتبارز (الشكل 142.4)، مع المحافظة على اليد ثابتةً.
3. تُمسَك الإبرة بثبات بين الإبهام والسبابة وتُدْخَل الإبرة عمودياً على العقدة إلى مركزها (الشكل 143.4)، فيُثْقَب الجلد أولاً ثم يُخْتَرَق مركز العقدة. يجب تجنب المساس بالأوردة الوداجية أو الشرايين السباتية.
4. تُدَلَّك العقدة بلطف بيد الفاحص اليسرى.
   وباليد اليمنى تُدَوَّر الإبرة في كلا الاتجاهين (الشكل 144.4).
5. سوف يَنِزّ سائل العقدة إلى داخل الإبرة، ويجب أن تستغرق العملية حوالي دقيقة واحدة.



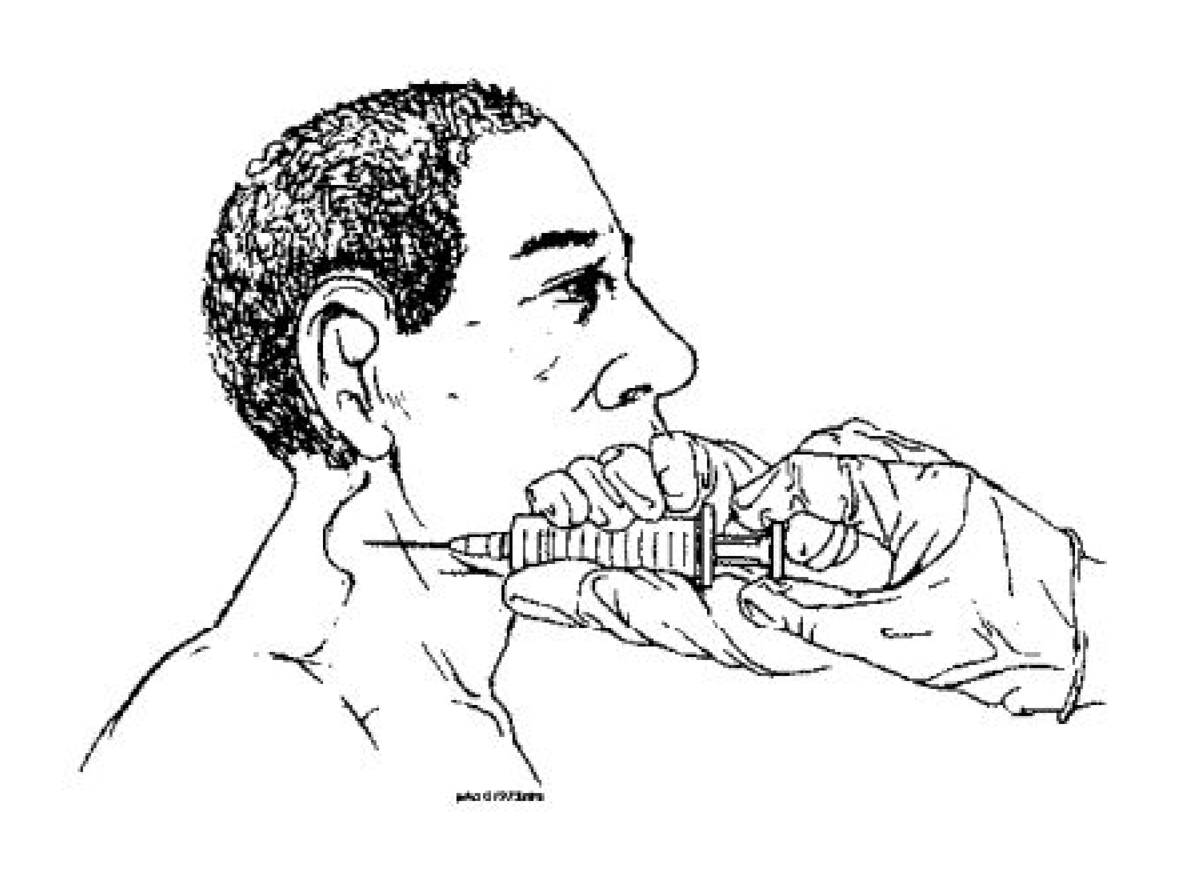
الشكل 142.4. جعل العقدة اللمفية تتبارز.



الشكل 143.4. إدخال إبرة إلى العقدة اللمفية.



الشكل 144.4. تمييل الإبرة في اتجاهين.



الشكل 145.4. أخذ عينة من السائل من العقدة اللمفية.

6. توصل الإبرة بالمحقنة والتي يكون مِكْبَسُها مسحوباً إلى الخلف، ثم يُدْفَع المكبس بلطف إلى نصف مَساره لإفراغ قطرة من السائل العقدي الذي تحتويه الإبرة فوق شريحة (الشكل 145.4).

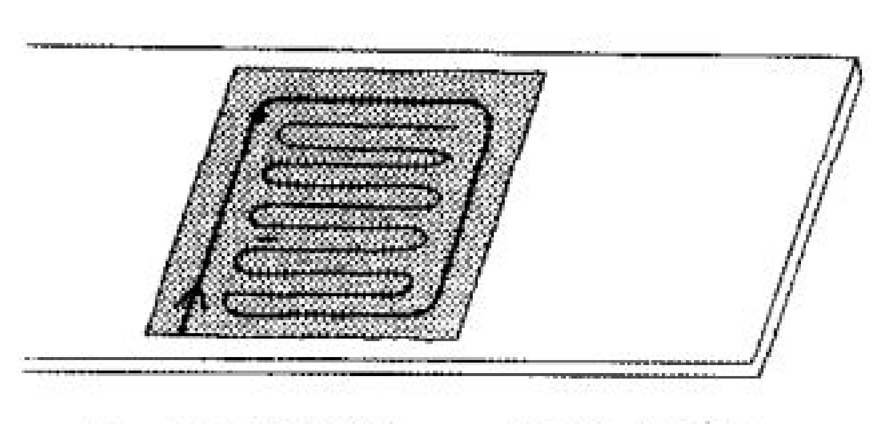
الفحص المجهري

تُفحص الشريحة بالمجهر باستعمال الشيئية 10× ثم الشيئية 40×. يُغْلَق حجاب قزحية المكثفة بشكل كافٍ لإعطاء صورة واضحة.

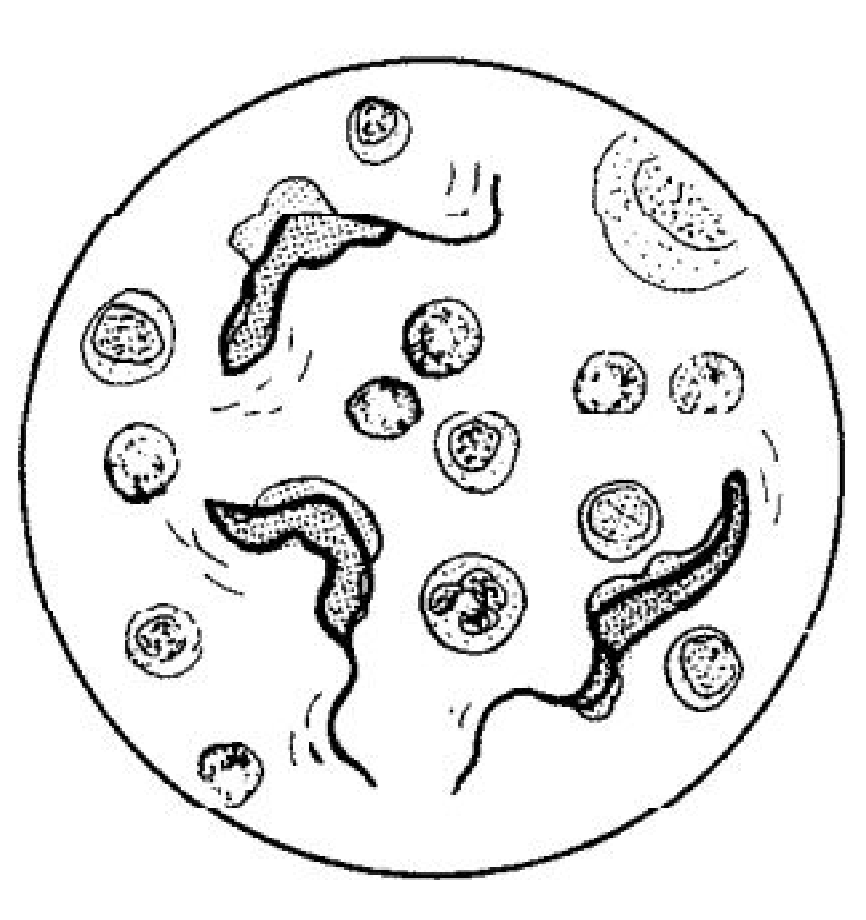
يُنْتَظَر حتى تتوقف تيارات الحَمَلان في سائل المحضر، فمن غير الممكن رؤية حركة المثقبيات بين الخلايا المتحركة.

يُبدَأ الفحص بفحص محيط المحضر قرب حوافي الساترة -كما يبدو في الشكل -146.4 إذ تميل المثقبيات إلى أن تشق طريقها نحو الحوافي، ثم يجري فحص بقية المحضر.

يحتوي المحضر على كريات حمراء وكريات بيضاء، وتكون المثقبيات بطول حوالي 20 مكم وهي محجوبة غالباً بالكريات التي تهتز وتضطرب بحركة سياط المثقبيات (الشكل 147.4).



الشكل 146.4. فحص عينة العقدة اللمفية تحت المجهر.



الشكل 147.4. مظهر المثقبيات في محضر العقدة اللمفية.

استعراف المثقبية البروسية الغامبية والمثقبية الروديسية في أفلام الدم

المبدأ

إن المثقبيات التي تعود إلى أنواع المثقبية البروسية تُكشف في الدم:

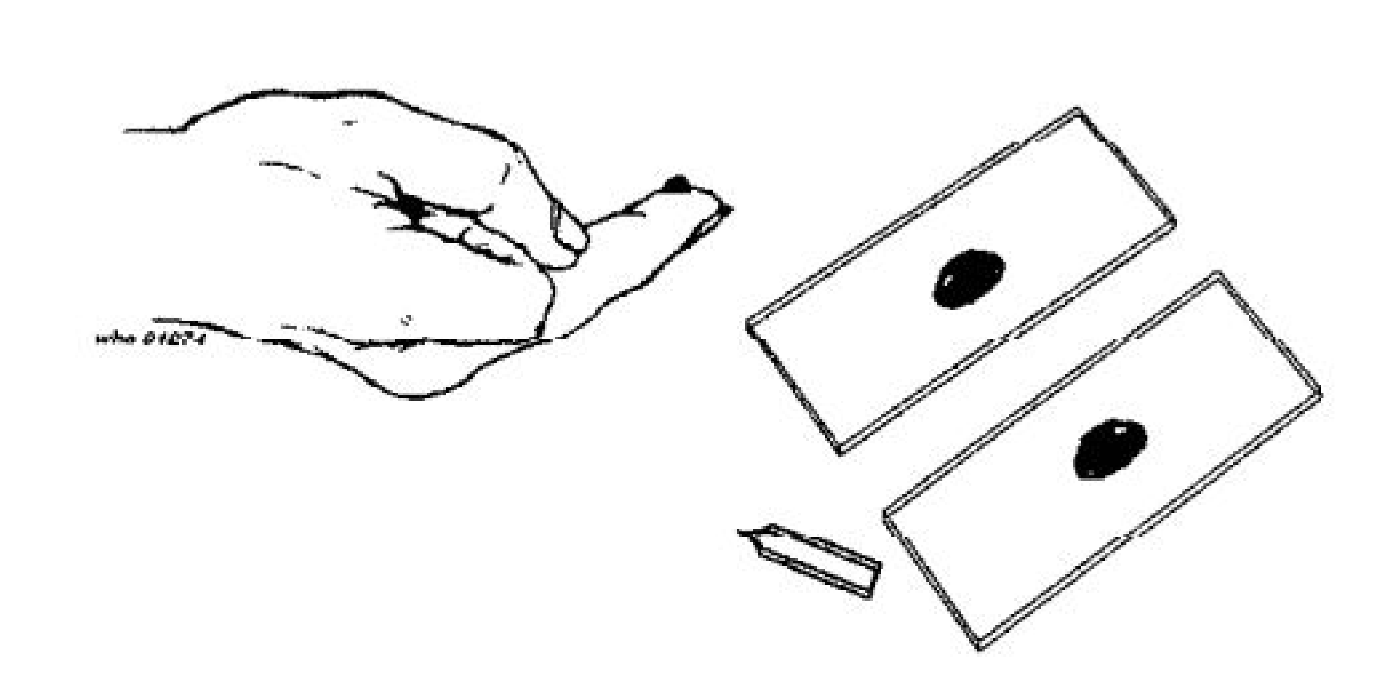
- في المحضرات الرطبة.
- في الأفلام الثخينة بعد التلوين.
- بعد التركيز بالتنبيذ المتكرر.
- في الاختبارات المصلية.

ملاحظة هامة: في داء المثقبيات الإفريقي تظهر المثقبيات في الدم دورياً لمدة بضعة أيام وخصوصاً في غضون الأشهر الثلاثة الأولى من المرض ولا سيما أثناء هَجْمات الحمى.

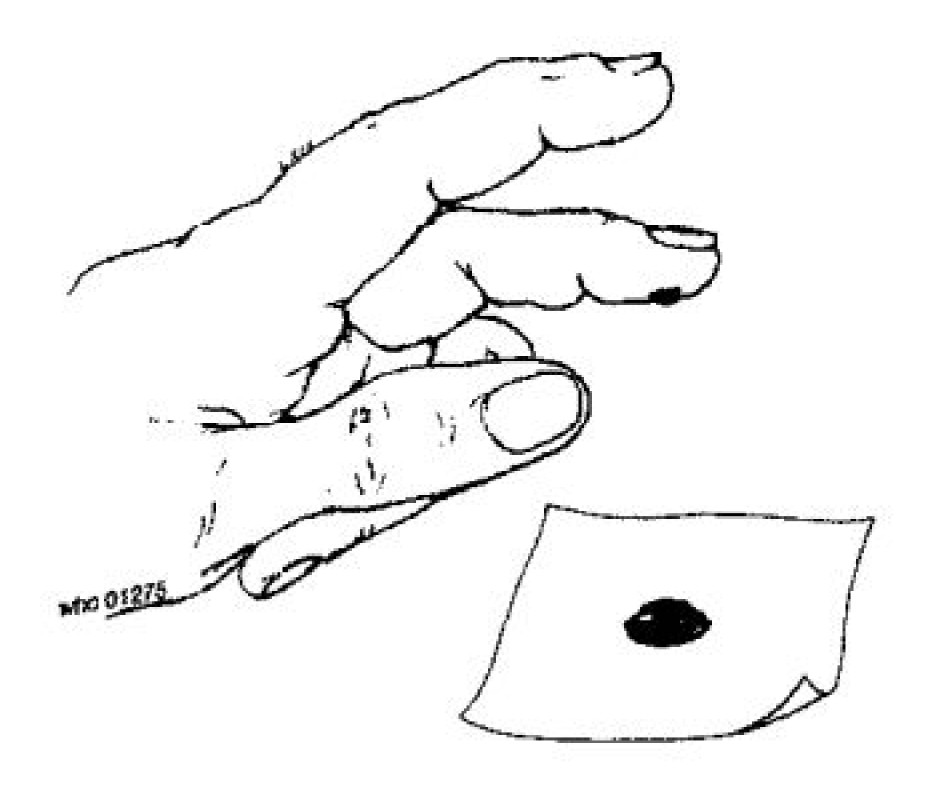
الفحص المجهري للدم الشعيري

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح



الشكل 148.4. أخذ عينه الدم الشعيري على كل من الشريحتين.





الشكل 149.4. أخذ عينة دم شعيري على ورق الترشيح.

- ساترات
- واخزات دموية
- أوراق ترشيح
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- ملون غيمزا (الكاشف رقم 29) أو ملون فيلد (الكاشف رقم 25).
- ماء مدروء باهاء 7.2 (الكاشف رقم 15).
- إيثانول 70%

الطريقة

1. يُعقم رأس الإصبع الوسطى ثم يوخز بالواخزة، وتُمسح القطرة الأولى من الدم بورقة الترشيح ثم تؤخذ قطرتان من الدم (الشكل 148.4):

   قطرة على شريحة أولى؛ — وقطرة على شريحة ثانية.

2. تؤخذ قطرتان من الدم على قطعة من ورق الترشيح (الشكل 149.4)، وتُتركا حتى تجفا.

3. على الشريحة الأولى توضع قطرة واحدة من محلول كلوريد الصوديوم إلى جانب قطرة الدم.

   يُمزج بواسطة زاوية شريحة (الشكل 150.4)، ويُغطى المزيج بساترة.

4. يُفرَش الدم على الشريحة الأخرى، لعمل فلم ثخين (ص 174).

   يُلوَّن بملون غيمزا (ص 175) أو ملون فيلد (ص 177).

ملاحظة: يجب أن تُلَوَّن أفلام الدم وتُفحص على الفور بعد أخذ عينات الدم إذ أن المثقبيات تنحل وتتلاشى خلال بضعة ساعات.

الفحص المجهري

فحص المحضر الرطب: تُفحص الشريحة الأولى (ذات المحضر الرطب) بالمجهر بواسطة الشيئية 40× مع إنقاص فتحة المكثفة.

تفحص حوافي اللطاخة في البدء. ويبحث عن وجود أي حركة بين الكريات الحمر، لأن المثقبية تزيح الكريات من طريقها بسَوْطها عندما تتحرك قُدُماً.

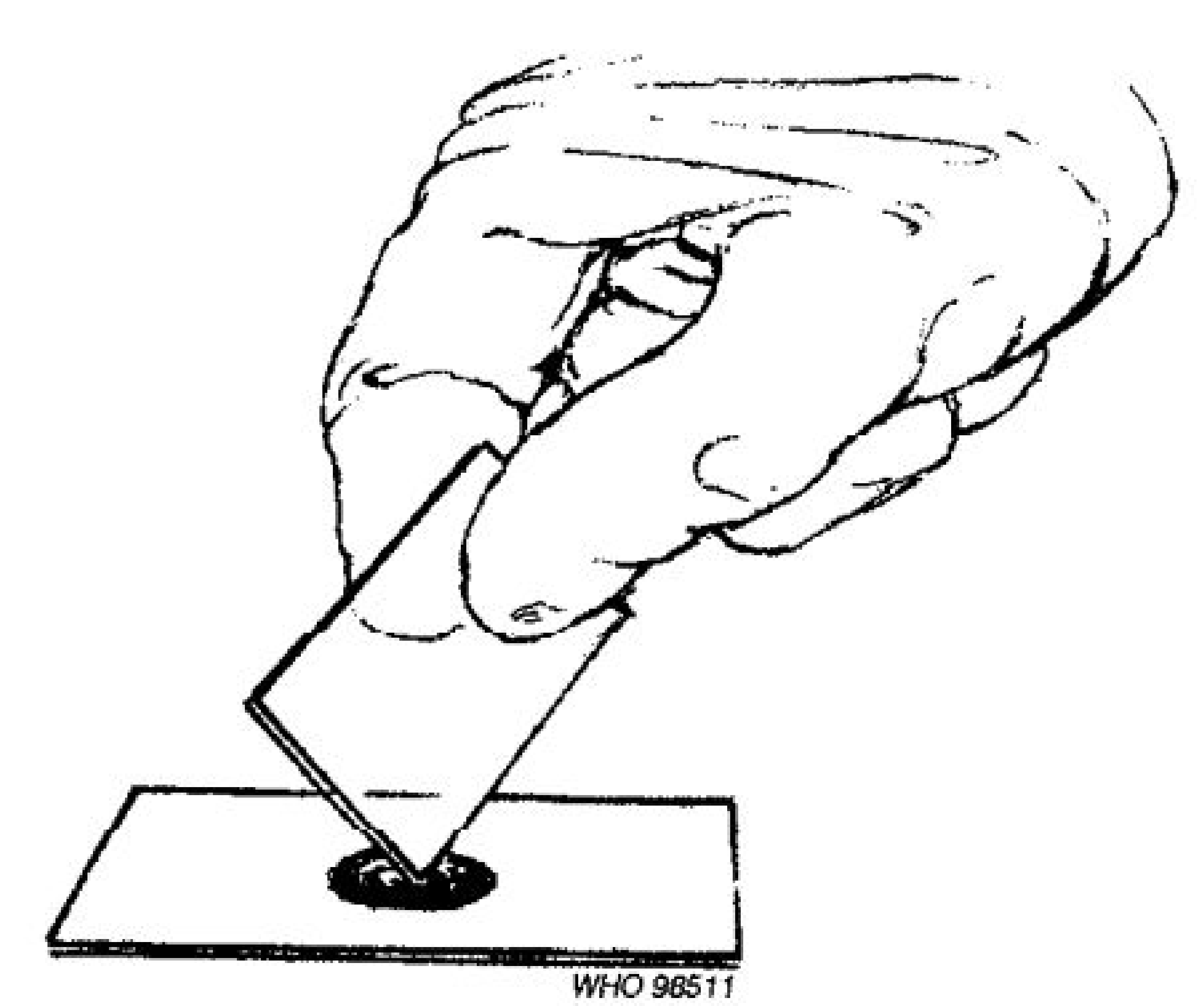
يتم التأكد من أن الكائنات الحية المشاهدة هي مثقبيات:

الطول: 15–25 مكم (2–3 كريات حمراء).

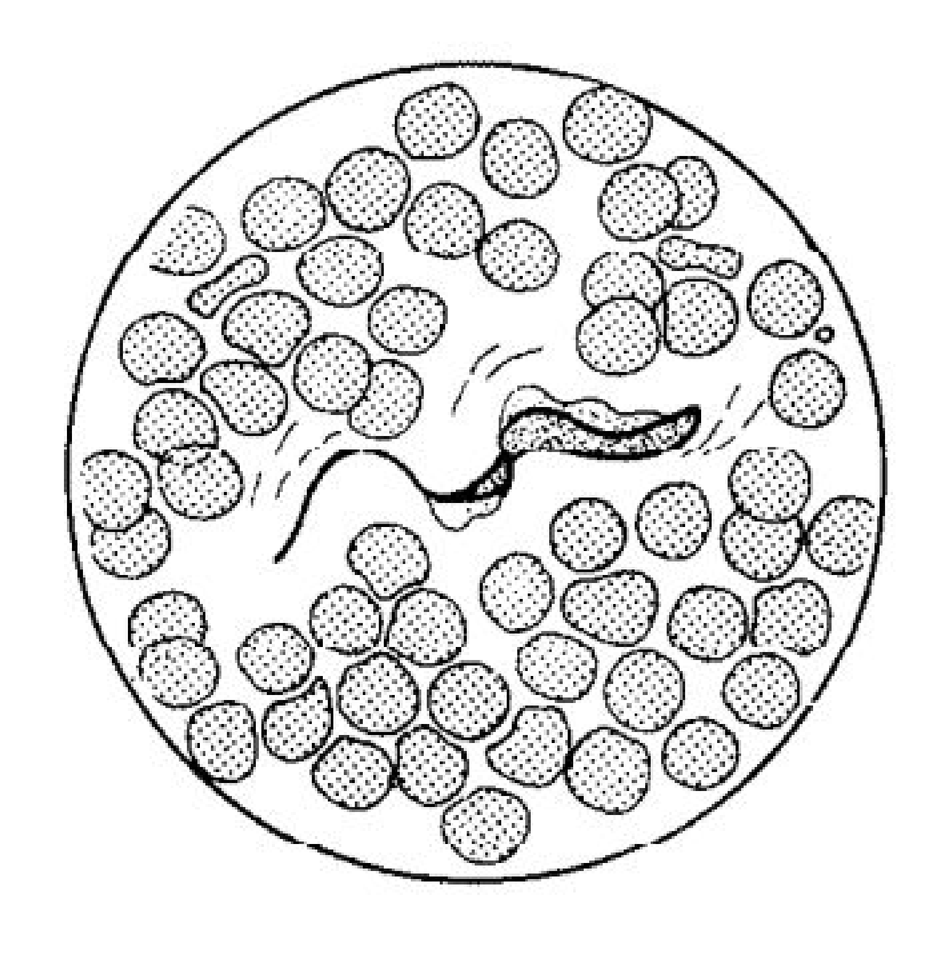
العرض: 3 مكم (نصف كرية حمراء).

الشكل: يشبه سمكة متطاولة.

التحرك: تتحرك المثقبيات قُدُماً بسرعة وتتقلص كالثعبان، ويكون لها غشاء مُتَمَوِّج يتبارز من سوط متحرك عند النهاية الأمامية (الشكل 151.4).



الشكل 150.4. مزج المحلول الملحي والدم باستعمال شريحة.

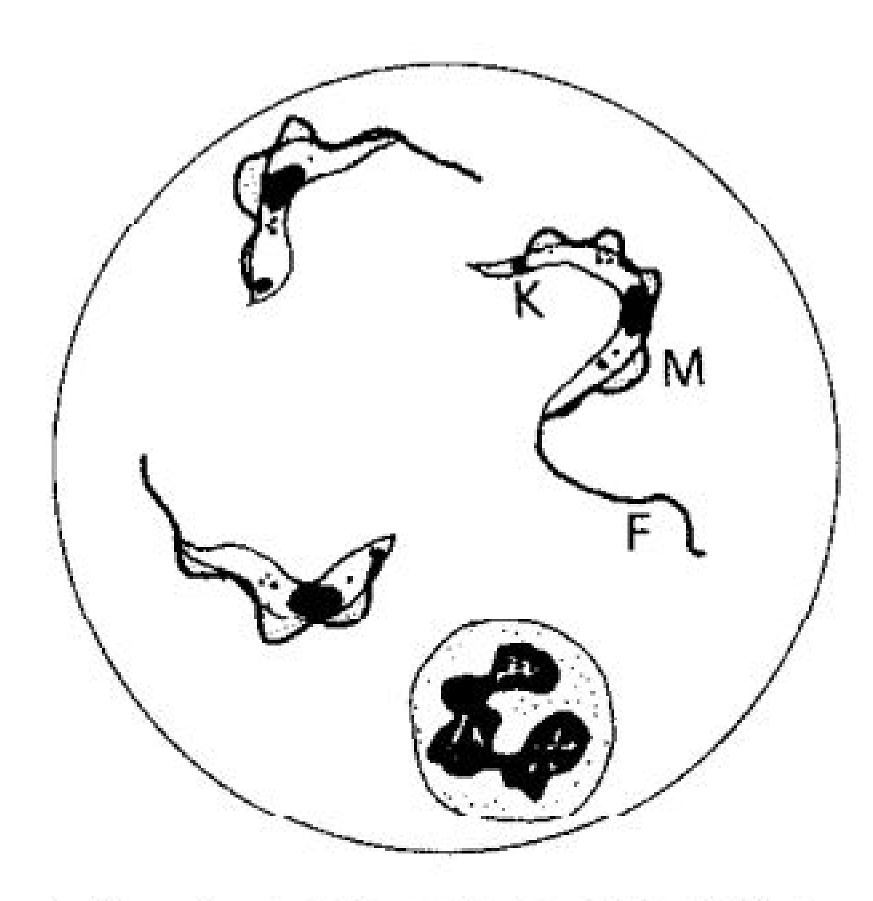




الشكل 151.4. مظهر المثقبيات في محضر رطب.

ينبغـي عدم الخلط بين المثقبيات وبين المكروفيلاريات التـي تكون أكبر بكثير (100–300 مكم أو 10–40 كرية حمراء).

فحص الأفلام الثخينة: ينبغي أن تُفحص أفلام ثخينة دائماً حتى ولو ظهر أن فحص المحضر الرطب إيجابي، وذلك للتأكد من أن الأحياء المتحركة التي شوهدت هي مثقبيات.



الشكل 152.4. مظهر المثقبيات في فلم الدم الثخين الملون: F: السوط؛ K: منشأ الحركة؛ M: الغشاء المتموج.

يتشـابه مظهرا المثقبيات البروسـية الغامبية والمثقبيات البروسـية الروديسـية في المحضرات الملونة (الشكل 152.4).

الطول: 15–25 مكم.

الهيولى: زرقاء شاحبة.

النواة: نواة مركزية كبيرة حمراء تتلون بالأرجواني المحمر.

الحبيبات: جسم أحمر مكتنز واحد في النهاية الخلفية، وهو مَنْشأ الحركة.

الغشاء المتموج: وردي محمر يبدأ من منشأ الحركة.

السوط: وردي يتبارز 5 مكم إلى ما بعد الغشاء المتموج.

إذا كان الاختبار سلبياً في الشريحتين تعاد الاختبارات خلال سبعة أيام مُتَوَالية.

تُرسَل قطرة مجففة من الدم على شريط من ورق الترشيح إلى مختبر مرجعي للمناعيات لاختبار تحري الغلوبولين المناعي (IgM) والأضداد النوعية.

طريقة التركيز باستعمال الدم الوريدي

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح
- ساترات
- منبذة كهربائية أو منبذة مكروهيماتوكريت
- أنابيب تنبيذ مخروطية ذات علامة عند السعة 10 مل.
- ممص باستور.
- محلول السيترات الثلاثية الصوديوم 3.2% (الكاشف رقم 60).

الطريقة

1. يوضع 1 مل من محلول السيترات الثلاثية الصوديوم في أنبوب تنبيذ مخروطي.
2. يؤخذ 9 مل من الدم الوريدي ويضاف إلى السيترات الثلاثية الصوديوم (أي يُملأ الأنبوب حتى العلامة 10 مل).
3. يُمزج ويُنبَذ الأنبوب بقوه نابذه 3000 جاذبية مدة ثلاث دقائق.
4. تُسْحَب كل طبقة البلازما الطافية وكذا طبقة الكريات البيضاء فوق راسب الكريات الحمر.

ثم يُمَجُّ السائل الطافي في أنبوب آخر (الأنبوب 2) ويُنبَذ بقوه نابذه 3000 جاذبية مدة خمس دقائق.

5. يُسحب كل السائل الطافي (لكن يُحتفظ براسب الأنبوب 2).

يمج السائل الطافي في أنبوب ثالث (الأنبوب 3)، ويُنبَذ بقوة نابذة 3000 جاذبيه مدة 10 دقائق.

6. يُفْحَص راسبا الأنبوبين 2 و 3 بين شريحة وساترة بالمجهر.

تظهر المثقبيات في راسب الأنبوب 3 (وأحياناً في راسب الأنبوب 2).

الطريقة البديلة

إذا توفرت منبذة المكروهيماتوكريت فإنه يمكن أخذ الدم الوريدي أو الشعيري مع مضاد تخثر بالأنابيب الشعرية للمكروهيماتوكريت، وتكون طريقة الأخذ والفحص هي نفس ما تقدم بالنسبة للمكروفيلاريات (ص 164). يمكن أن تُكْشَف المثقبيات المتحركة -إن وُجِدَت- في البلازما فوق طبقة الكريات البيضاء مباشرة، وتُستعمل أولاً الشيئية 10× مع إنقاص فتحة المكثفة لكشف أي حركة ثم تُستعمل الشيئية 40× لرؤية المثقبيات بوضوح أشد.

اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة (CATT) لتحري داء المثقبيات الإفريقي

اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة (card agglutination trypanosomiasis test CATT) هو اختبار مصلي يُستعمل لتشخيص داء المثقبيات الإفريقي.

المواد والكواشف

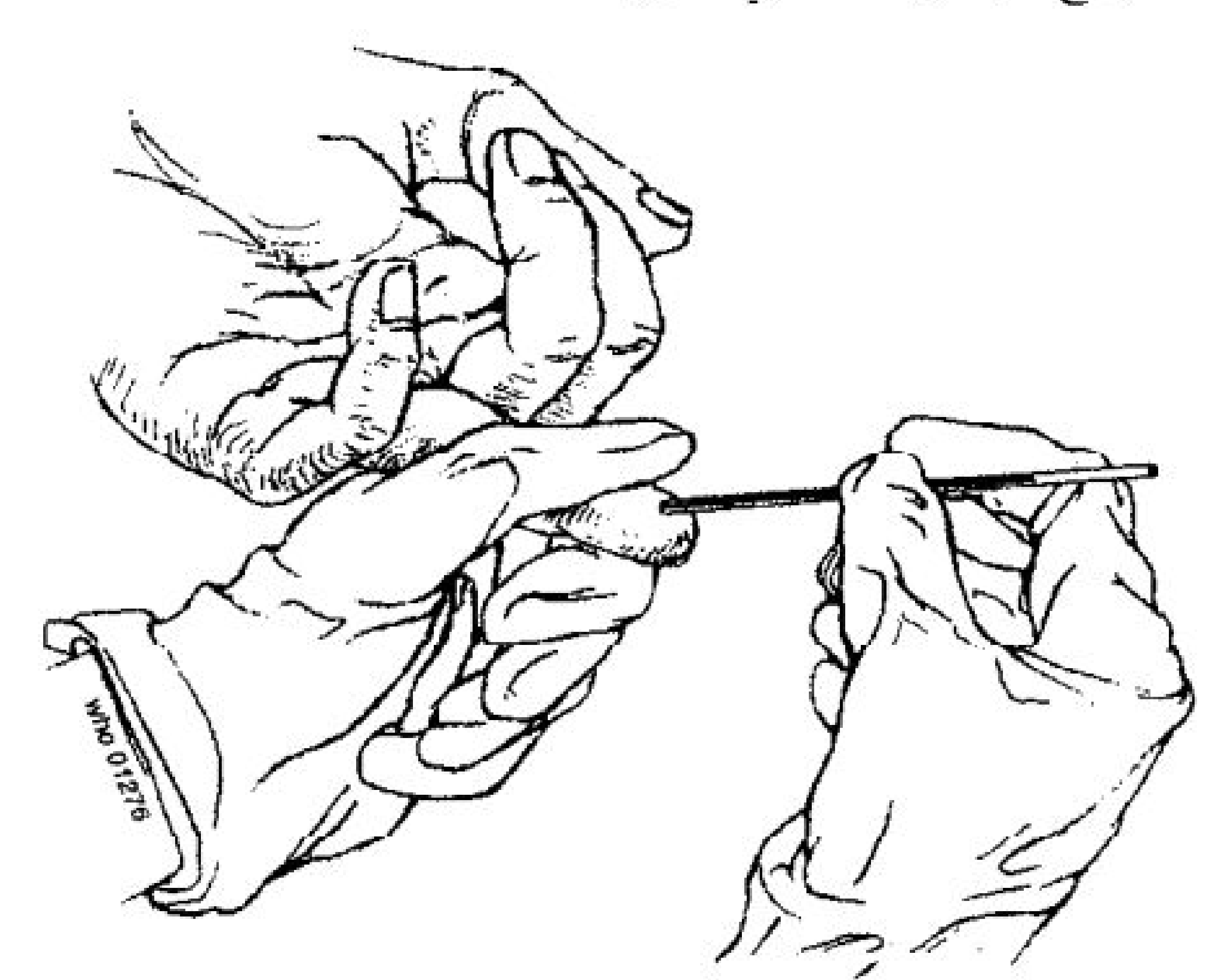
- مرطبان
- محارم ورقية أو من القماش
- قضبان زجاجية للمزج
- قوارير قَطَّارَة مُوَزِّعة
- بصلات مطاطية لأنابيب المكروهيماتوكريت
- محاقن سعه 2.5 مل مع إبر
- واخزات دموية
- أنابيب مكروهيماتوكريت حاويه على الهيبارين
- بطاقات اختبار
- حوامل لأنابيب المكروهيماتوكريت (لحمل 10 أنابيب) مع غطاء
- دَوَّارَة يدوية أو كهربائية (220/12 فولط) مع غطاء
- مستضد مُجَفَّد (مجفف ومجمد)
- مصل شاهد إيجابي مجفف ومجمد
- مصل شاهد سلبي مجفف ومجمد
- دارئ لاستِنْشاء الكواشف

إن المواد والكواشف المذكورة أعلاه متوافرة تجارياً بشكل عَتِيْدَة kit اختبار كافية لـ 250 اختباراً؛ ويجب قبل إجراء الاختبار تحضير المواد واستنشاء مقدار الكواشف اللازمة لعمل اليوم، كما يجب قراءة التعليمات المُزَوَّدَة في العتيدة واتباعها بدقة.

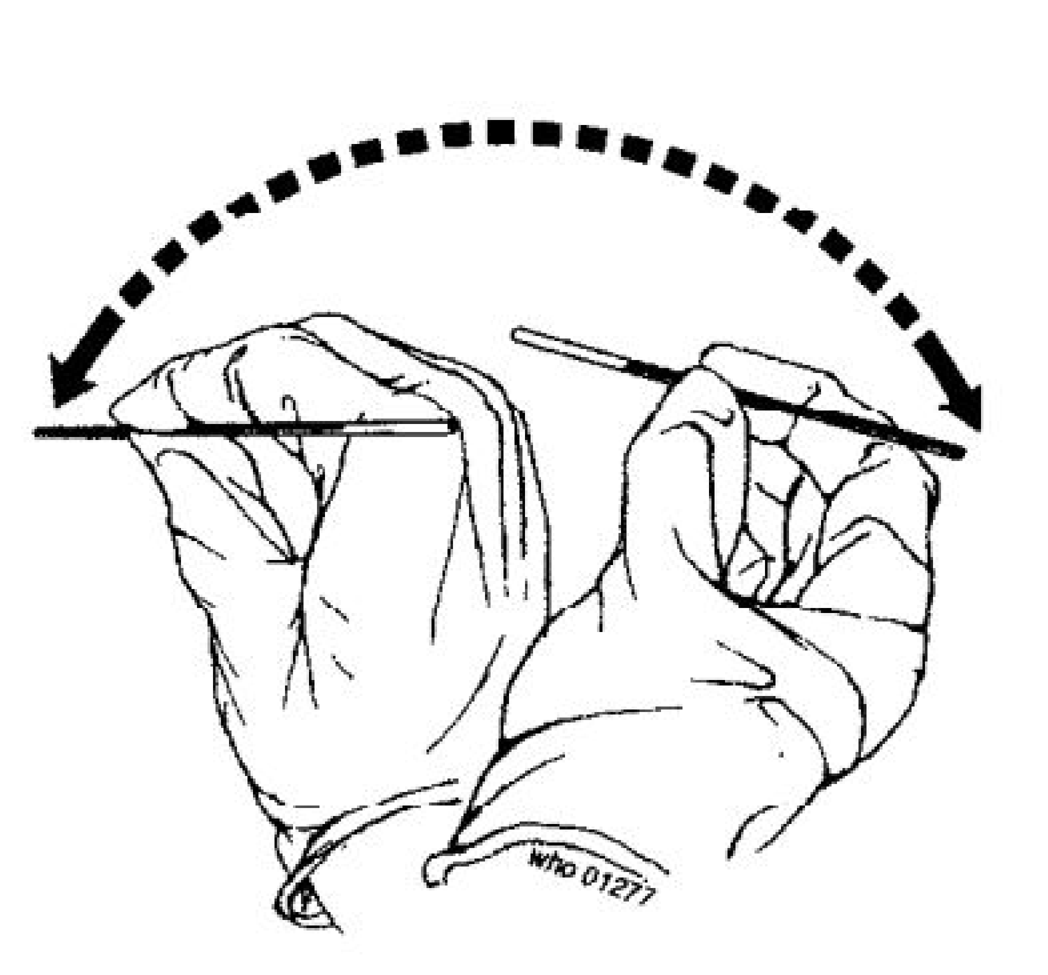
الطريقة

أخذ العينات

1. تُستعمل واخزة دموية لعمل جرح وخزي صغير في الإصبع الأولى أو الثانية أو الثالثة للمريض، ويُجمع الدم في أنبوب هيباريني للمكروهيماتوكريت (الشكل 153.4) بحيث يمتلئ إلى ثلاثة أرباعه.
2. يُدَوَّر الأنبوب على الفور بلطف بحيث يجري الدم من إحدى نهايتي الأنبوب إلى النهاية الأخرى (الشكل 154.4)، وتُكرر هذه الحركة مرتين، وهذا يضمن أن الدم والهيبارين أصبحا ممزجين معاً ويمنع العينة من التَجَلُّط في الأنبوب.



الشكل 153.4. أخذ عينة الدم باستعمال أنبوب المكروهيماتوكريت.

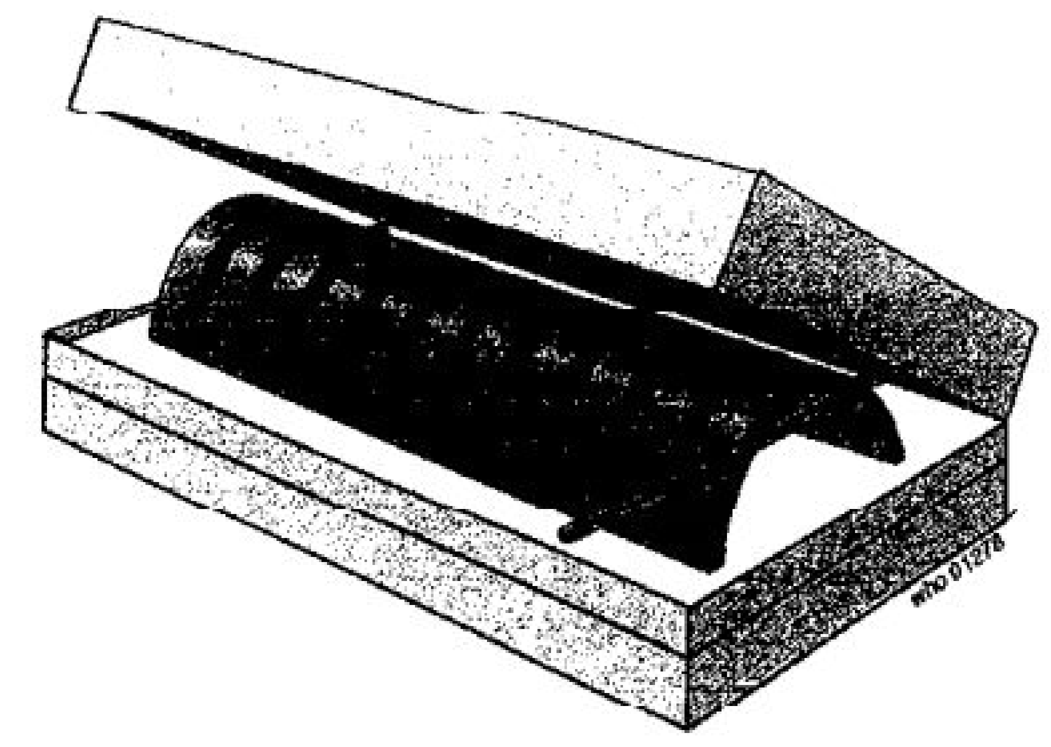


الشكل 154.4. تدوير الأنبوب لمزج العينة.

3. يوضع أنبوب المكروهيماتوكريت في الحامل الخاص (مُزَوَّد مع العتيدة؛ الشكل 155.4)، ويُحافظ على الحامل مُغَطًّى لأكثر ما يمكن من الوقت، لتجنب الغبار ولمنع عينة الدم من الجفاف في الأنبوب.

يكون لحامل أنابيب المكروهيماتوكريت 10 شقوق مرقمة، ويجب التأكد من وضع الأنبوب الأول في الشق الأول، الخ...

حالما يمتلئ الحامل يُمَرَّر إلى الشخص الذي يجري الاختبار.

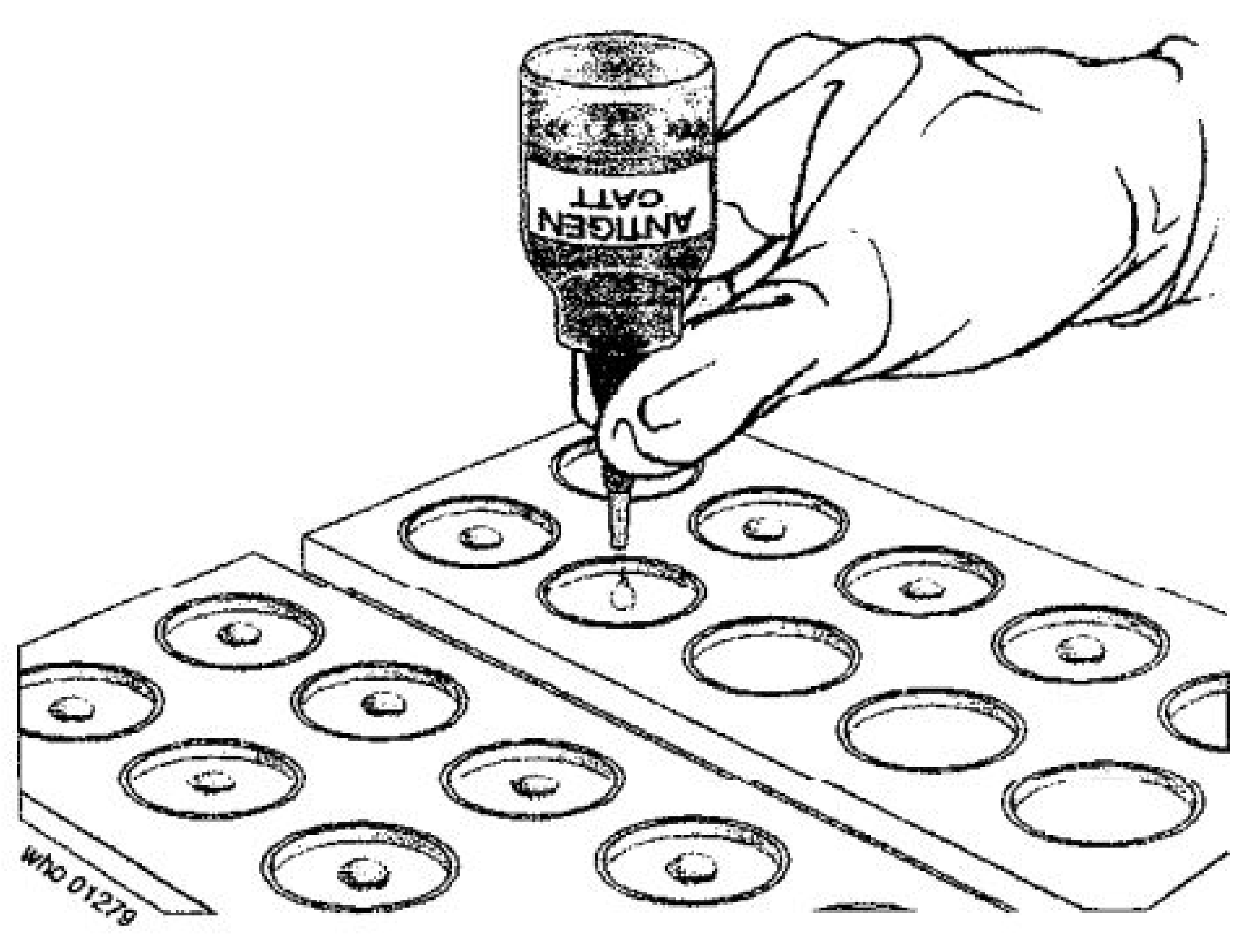


الشكل 155.4. حامل لأنابيب المكروهيماتوكريت.

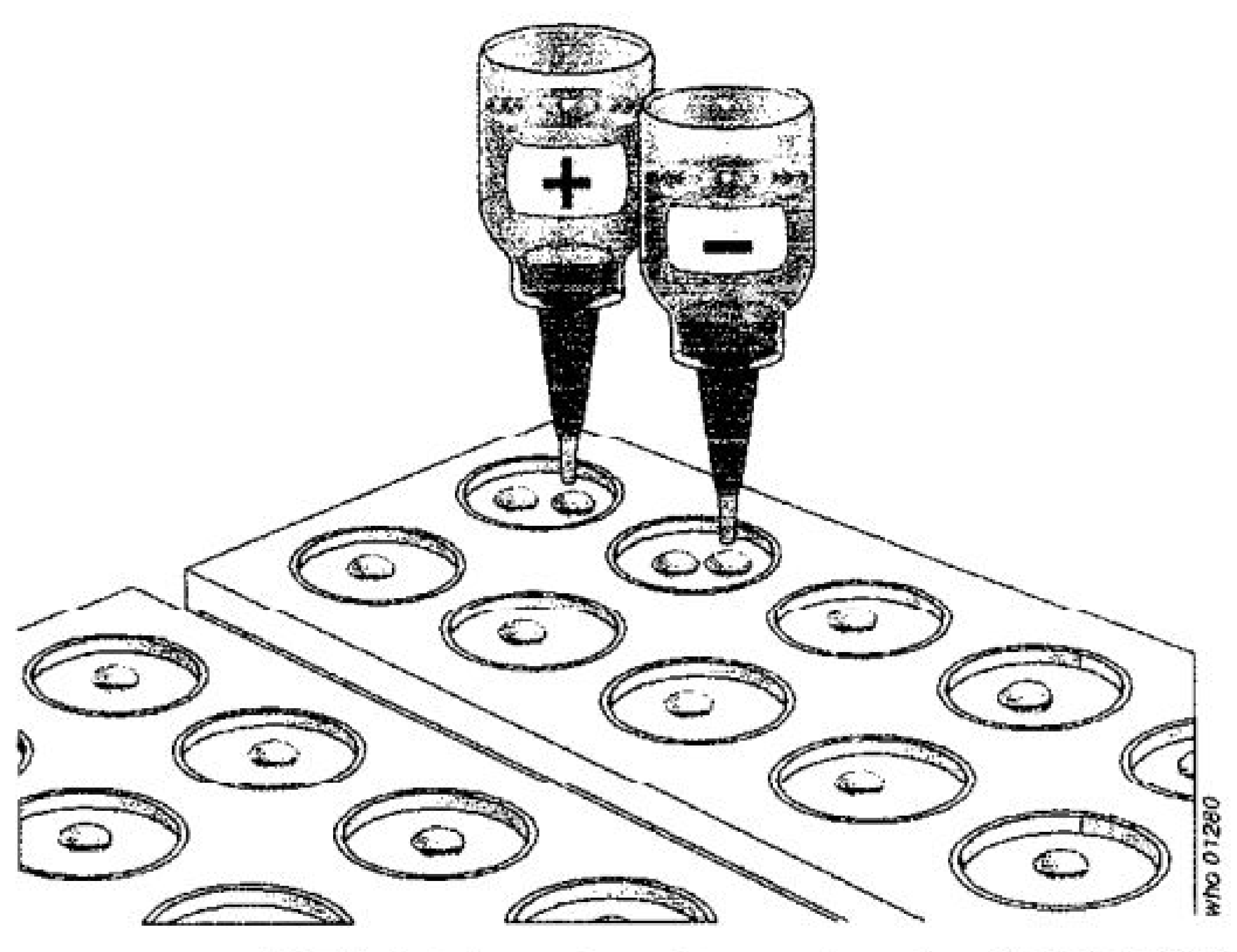
إجراء الاختبار

1. تُحَضَّر بطاقتا اختبار، وتوضع قطرة واحدة من المستصد المُنتَشَأ في كلِّ من البئرين 1 و 2 للبطاقة الأولى وفي كل آبار البطاقة الثانية، وتُمْسَك القارورة بشكل عمودي للحصول على قطرات مُعَيَّرَة ثابتة (الشكل 156.4).
2. تُستعمل البطاقة الأولى للتحقق من جودة الكاشف فتوضع قطرة واحدة من الشاهد الإيجابي في البئر 1 و قطرة واحدة من الشاهد السلبي في البئر 2 (الشكل 157.4).

ملاحظة: من الضروري إجراء ذلك مرة واحدة فقط لدى بداية كل يوم في المَسْح الميداني.

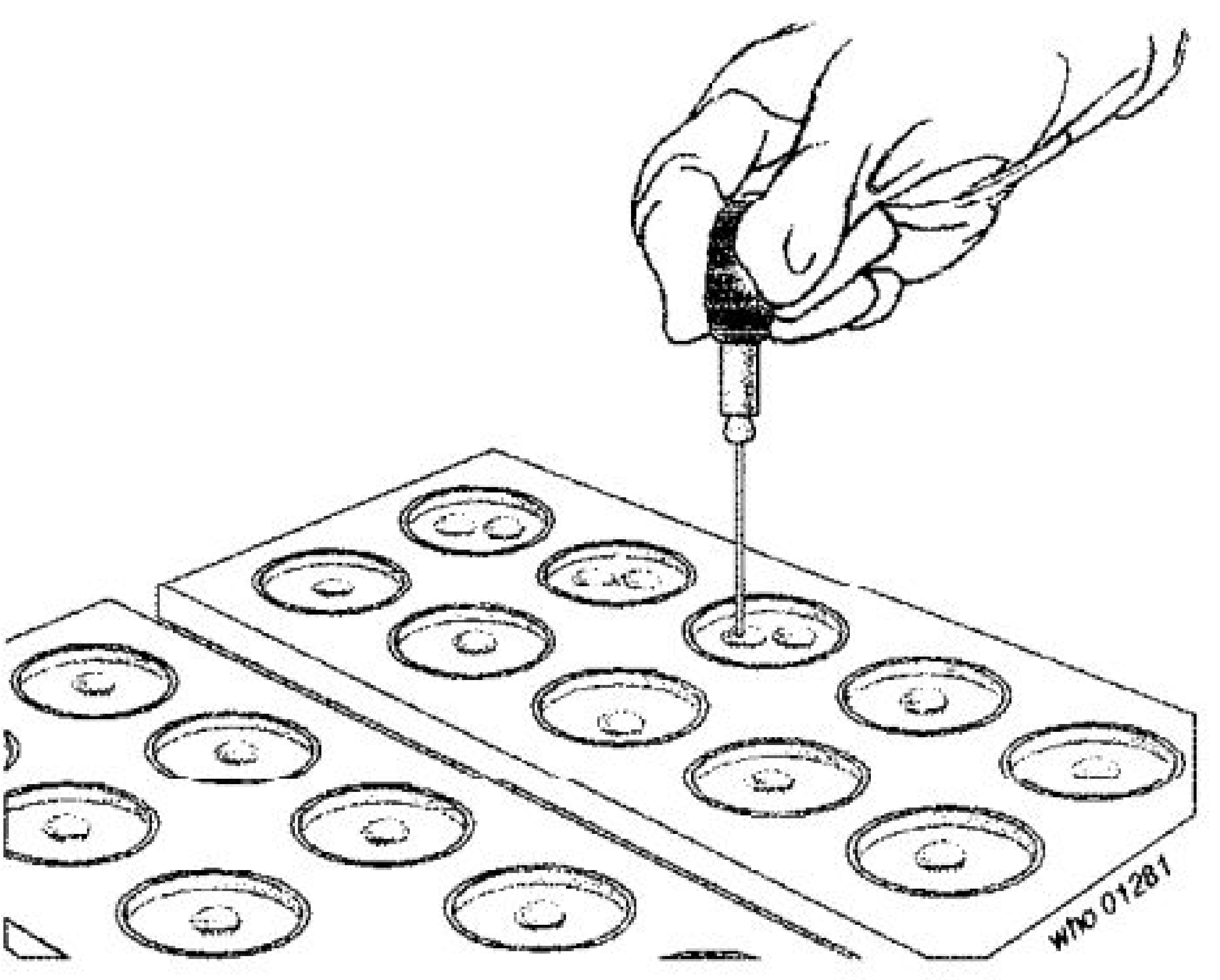


الشكل 156.4. وضع المستضد على بطاقة الاختبار.

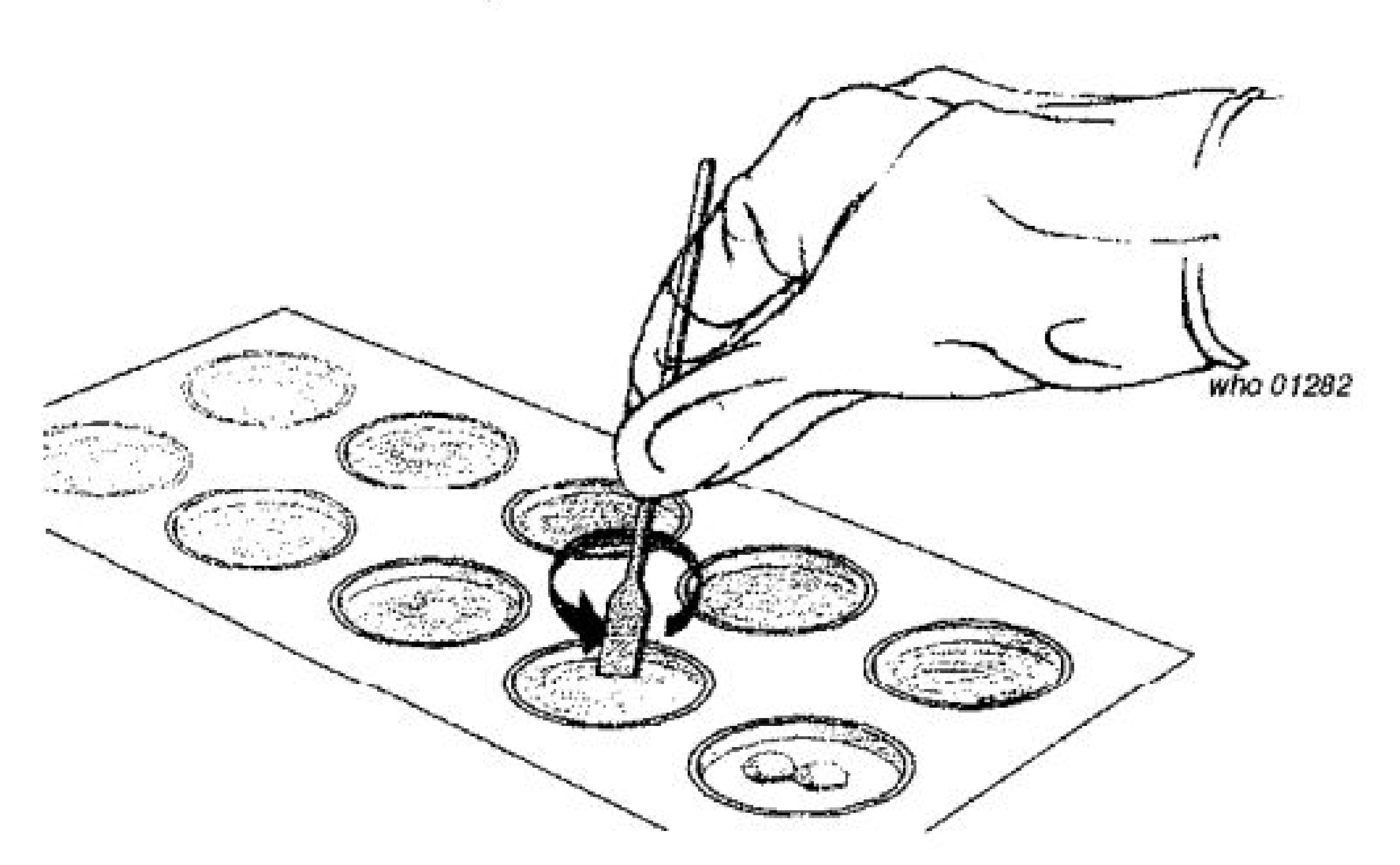


الشكل 157.4. تحضير الشواهد لاختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة CATT.

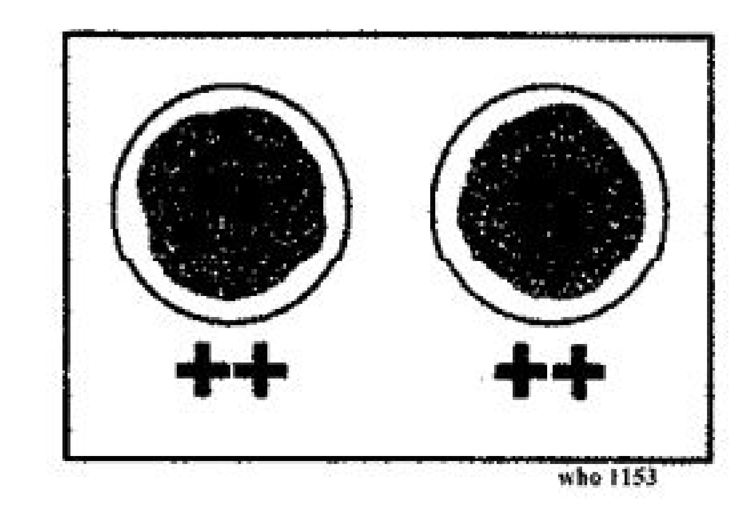
3. تُستعمل البطاقة الثانية لاختبار الدم المأخوذ فتوضع قطرة واحدة من الدم المأخوذ من أنبوب المكروهيماتوكريت الأول في البئر 1، ومن الأنبوب الثاني في البئر 2، الخ... (الشكل 158.4). يُرمى أنبوب المكروهيماتوكريت في مرطبان يحتوي على الماء مع مُنَظِّف.
4. يَستعمل قضيب تحريك لمزج الكواشف في كل بئر للبطاقة الأولى والكواشف وعينات الدم في كل بئر للبطاقة الثانية، ويُفرش المزيج بحيث يغطي البئر (الشكل 159.4). يُستعمل قضيب تحريك مستقل لكل بئر أو يُنَظَّف القضيب بقطعة من المناديل الورقية أو القماش بين كل بئر وآخر لتجنب تلوث العينات.
5. توضع كلتا البطاقتين على الدَّوَّارَة وتُغَطَّى ويوضع المُوَقِّت على 5 دقائق، وإذا كانت الدوارة يدوية يُتَحَقَّق من الوقت بساعة اليد. يجب أن تكون سرعة التدوير بطيئة (قوة نابذة حوالي 100 ج)، فإذا كانت سرعة التدوير سريعة جداً فستستقر لُزْنات clumps عند حافة البئر أما إذا كانت سرعة التدوير بطيئة جداً فالتفاعل سيكون ضعيفاً.
6. بعد 5 دقائق تُفحص الصفائح وتُسجل التفاعلات في كل بئر. ويجب الحيلولة دون جفاف العينات فإذا جفت أي عينة ينبغي إعادة الاختبار.



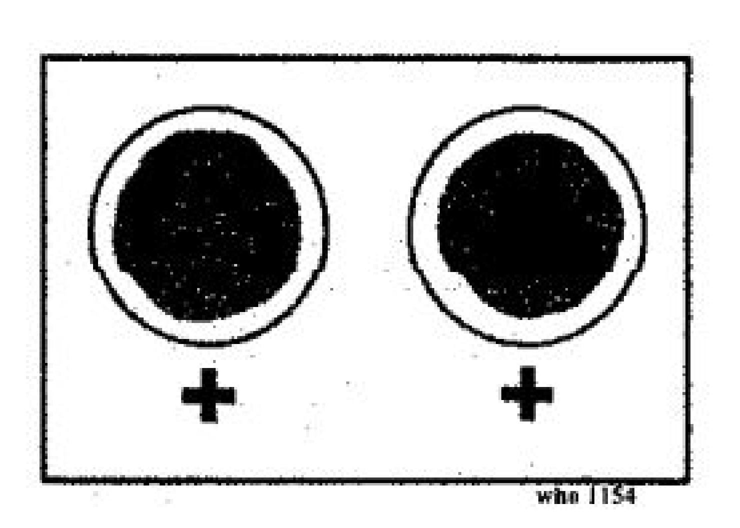
الشكل 158.4. وضع عينات المرضى على بطاقة الاختبار.



الشكل 159.4. مزج العينات في كل بئر من بطاقة الاختبار.



الشكل 160.4. التفاعل الإيجابي بشدة في اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة CATT.

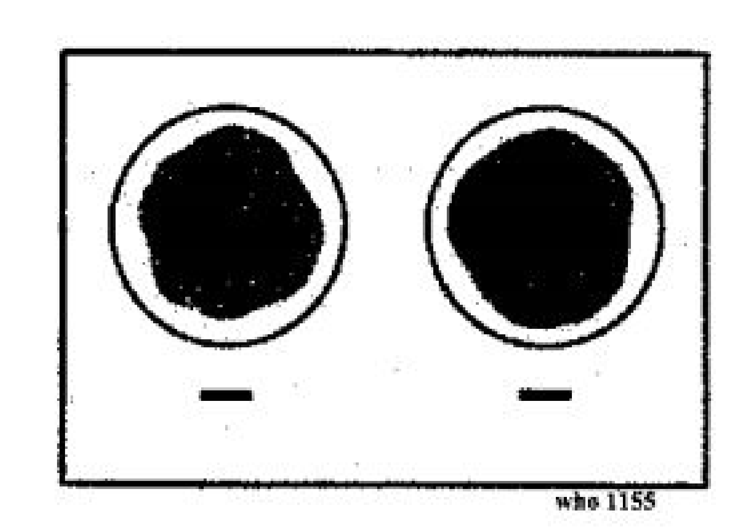


الشكل 161.4. التفاعل الإيجابي الضعيف في اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة CATT..

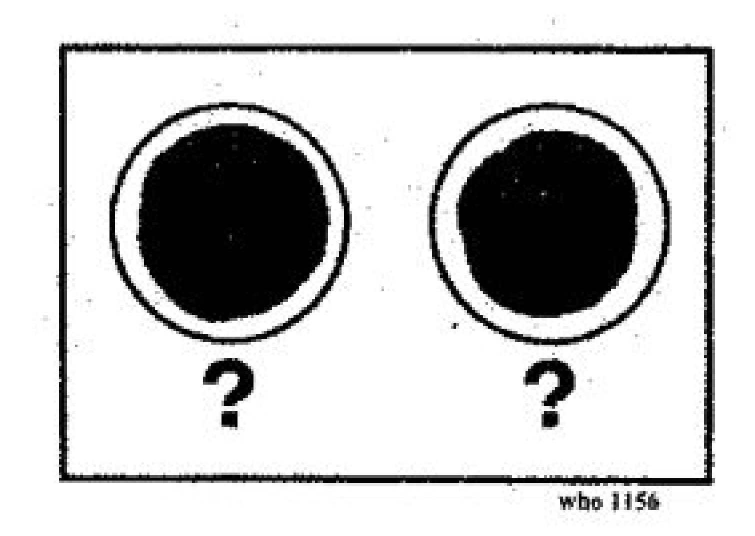
النتائج

التفاعلات الإيجابية (الشكل 160.4)
تُرى لُزنات صغيرة أو كبيرة من الجُسَيْمات فوق كامل البئر أو تشكل حلقة حول حافة البئر.

التفاعلات ضعيفة الإيجابية (الشكل 161.4)
تَنْفَرِش لُزنات صغيرة جداً من الجُسَيْمات فوق كامل البئر أو تشكل حلقة حول حافة البئر. يُعاد الاختبار باستعمال المصل أو البلازما.



الشكل 162.4. التفاعل السلبي في اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة CATT.



الشكل 163.4. التفاعل غير النوعي في اختبار داء المثقبيات بالتراص على البطاقة CATT..

التفاعلات السلبيه (الشكل 162.4).
لا يُرى تراص، إذ يبقى التفاعل متجانساً أو يكون أكثف قليلاً في المركز أحياناً.

التفاعلات غير النوعية (الشكل 163.4)
تُلاحَظ حلقة جافة حول حافة البئر، أو تُرى نقاط صغيرة أو خيوط رقيقة.
هـذا النمط من التفاعل هو سـلبي عادةً، وإذا كان هناك أي شـك حوله يُعاد الاختبار باسـتعمال المصـل أو البلازما.
ملاحظة: تُستَبْعَد أي كواشف مُسْتَنْشَأة غير مستعملة عند نهاية اليوم ما لم تكن قد وُضِعَت في الثلاجة، وإلا فإنها لن تَنْحَفِظ وقد تعطي نتائج كاذبة إذا استعملت في اليوم التالي.

الاختبارات التشخيصية الأخرى لتحري داء المثقبيات الإفريقي

إضافةً إلى الاختبارات الموصوفة أعلاه يمكن أن يُشَخَّص داء المثقبيات الإفريقي أيضاً في المختبر بما يلي:
- فحص رشافات العقدة اللمفيه لتحري المثقبيات (ص 183)؛
- اختبار الدم المجفف المأخوذ على ورقة الترشيح من أجل تحري IgM والأضداد النوعية (ص 187)؛
- حقن عينات الدم المأخوذ على الهيبارين في الجرذان أو الفئران (في المختبرات المُتَخَصِّصَة فقط)؛
- فحص نماذج السائل الدماغي الشوكي لتحري المثقبيات (الفقرة 3.3.8، ص 259).

داء شاغاس

يصـيب داء شـاغاس الأطفالَ بشـكل رئيسـي ويتميز بحمى مرتفعة متقطعة أو مسـتمرة. يُؤدي 50% من الأطفال تَوَرُّماً أحادي الجانب للأجفان (علامة رومانا)، وفي المناطق الأخرى من الجسم تحدث آفاتٌ جلدية (أورام شاغاسـية) مشابهةٌ للدمامل بالقرب من موضع الحقن، ويمكن أن توجد وذمة متعممة لكامل الجسم، ويكون تضخم الكبد شائعاً لدى الأطفال ولكنه لا يُرى غالباً لدى البالغين. قد تترافق الحمى بالتهاب العضل القلبي والتهاب السـحايا، وتسـبب عدوى السبيل الهضمي القيءَ والإسهالَ. وكثيراً ما يمكن أن تمر العدوى الأولية دون ملاحظتها، ولكن العدوى الشديدة قد تكون مميتة.
يلـي الطـور الحاد طورٌ من العدوى الخفية (الطور غير المُحَدَّد)، وهذا الدور يتميز بمسـتوى منخفض لوجود الطفيليات في الدم وغياب الأعراض السريرية، ويمكن أن يدوم لفترة غير محددة أو قد يؤدي إلى الشكل المزمن المرض، كما أن هذا الدور يتميز بوجود أضـداد نوعية يمكن كشـفها بالاختبارات المصـلية ولكن ليس لها علاقة بالأعراض السريرية.

يبدي المرضى الذين يُعانون من الشكل المزمن للمرض علامات القصور القلبي، وغالباً ما تكون الشذوذاتُ في مخطط كهربية القلب ظاهرةً رغم أن الأعراض السريرية غائبة؛ وقد ينفي كلياً مرضى الشكل المزمن للمرض أنهم تعرضوا للشكل الحاد ربما لأنه مرّ دون أعراض أو لأنه حدث أثناء الطفولة ونُسي ذلك.

مصادر العدوى، وطرق الانتقال

ينتقل الطفيلي (المثقبية الكروزية Trypanosoma cruzi) في داء شاغاس بالبَقّ من جنس الفِسْفِس Triatoma الذي يصبح مصاباً بالعدوى بابتلاع دم البشر أو الحيوانات المصابة بالعدوى، ويتكاثر الطفيلي في أمعاء البق الفسفسي. يُصاب البشر بالعدوى عندما يتلوث الجرح في موضع لدغة الفسفس بالبراز المُعْدى ببراز البق.

هناك اختطارٌ (احتمال خطر) جِدّيٌّ لإمكانية انتقال داء شاغاس عبر نقل الدم إذا لم تُتّخذ احتياطات ملائمة.

الاختبارات التشخيصية لداء شاغاس

إن داء شاغاس الذي يحصل في أُمريكا الوسطى والجنوبية يسببه حيوان أوالي هو المثقبية الكروزية وينقله البَقّ من جنس الفِسْفِس، وهنالك نوع آخر للمثقبية هو المثقبية الرانْغيليّة التي تصيب البشر بالعدوى في نفس المناطق تقريباً، وعلى الرغم من أن المثقبية الرانغيليّة غير ممرضة فينبغي استعرافها وتمييزها عن المثقبية الكروزية من أجل تشخيص داء شاغاس.

ملاحظة هامة: لا توجد المثقبيات المتحركة في الدم إلا في غضون الدور الحاد من المرض ويندر أن تشاهد بعد ذلك، أما في أثناء الدور المزمن من المرض فإن التشخيص يعتمد اعتماداً رئيسياً على الطرق المناعية.

يصعب العثور على المثقبيات التي تسبب داء شاغاس في الدم، وتستعمل نفس الطرائق التي استعملت من أجل تشخيص داء المثقبيات الإفريقي:

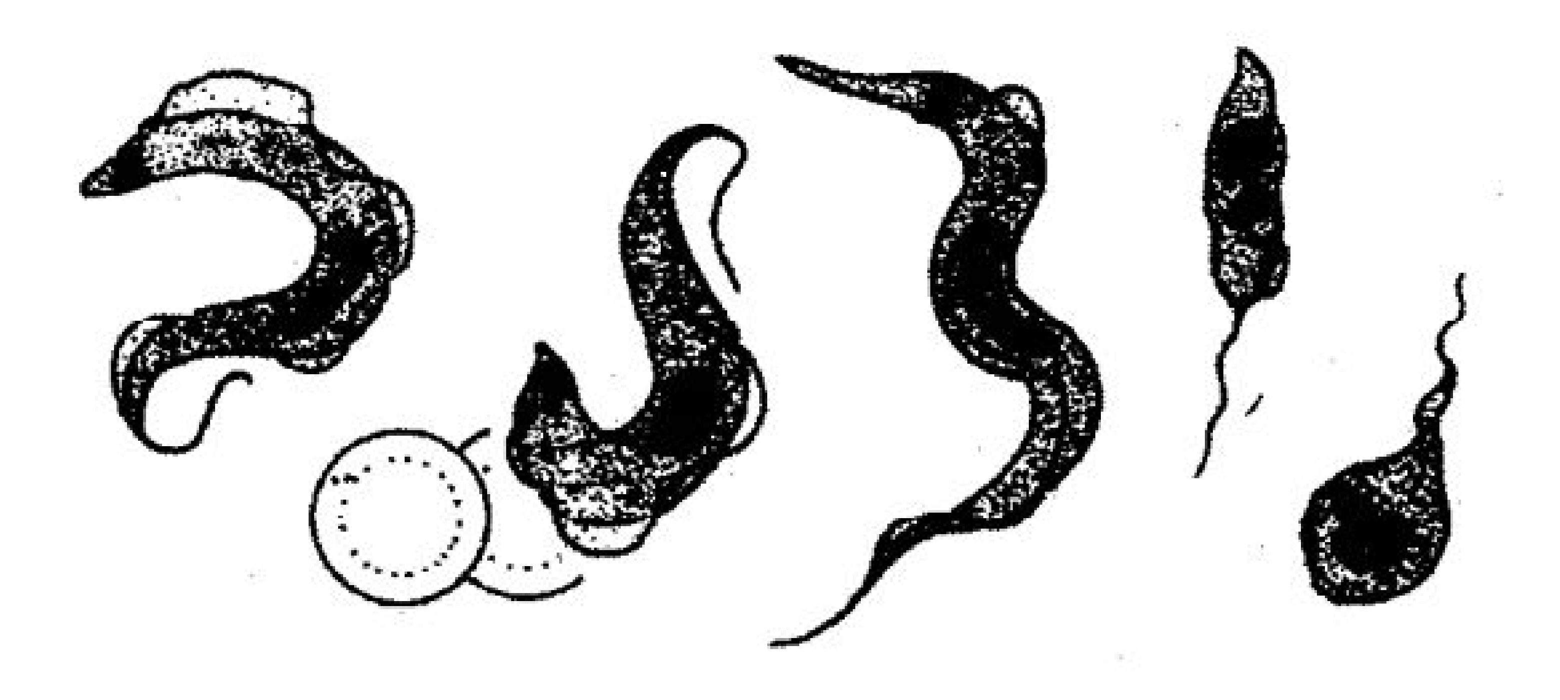
- فحص محضر رطب (ص 186؛ و يندر أن يكون إيجابياً في غضون الدور المزمن من المرض)؛
- فحص أفلام ثخينة مراراً وتكراراً عدة أيام على التوالي (ص 187)؛
- فحص أفلام الدم باستعمال الدم الوريدي المحضر من عينات دم منبذة (ص 187–188)
- فحص عينات الدم الجاف لكشف IgM والأضداد النوعية (ص 187).

استعراف المثقبية الكروزية في الأفلام الثخينة الملونة بغيمزا (الشكل 164.4)

الطول: حوالي 15 مكم في الأشكال العريضة و20 مكم في الأشكال النحيفة.

الشكل: أشكال عريضة كحرف (C)، وكذلك أشكال نحيفة كحرف (S) عموماً.

الهيولى: زرقاء شاحبة.



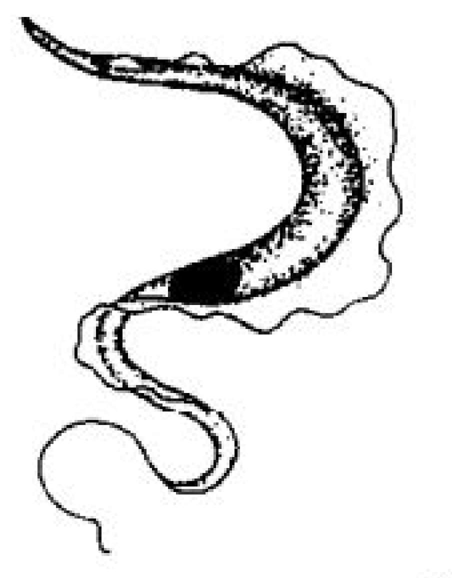
الشكل 164.4. مظهر المثقبية الكروزية في أفلام الدم الثخينة.

النواة: كبيرة مركزية وحمراء.

منشأ الحركة: حُبَيْبَة كبيرة ومدورة بلون أحمر قاني أو أرجواني قرب النهاية الخلفية للطفيلي.

الغشاء المتموج: ضيق بلون وردي محمر.

السوط: وردي يتبارز إلى مابعد الغشاء المتموج.



الشكل 165.4. مثقبية الرانغيلية في أفلام الدم الثخينة.

استعراف المثقبية الرانغيلية في أفلام الدم الملونة (الشكل 165.4)

الطول: 25–35 مكم.

الشكل: لا توجد إلا أشكال نحيفة ذات نهايات مؤنَّفَة.

النواة: حمراء قرب الجزء المركزي من جسم الطفيلي.

منشأ الحركة: صغير بشكل نقطة حمراء قانية بعيداً عن النهاية الخلفية.

الغشاء المتموج: مرئي وضيق.

السوط: يتبارز إلى ما بعد الغشاء المتموج.

4.7.4 داء اللِّيشْمانِيّات Leishmania spp.

داء اللِّيشْمانِيّات هو مجموعة من الأمراض تسببها العدوى بحيوان أوالي طفيلي من جنس اللِّيشْمانِيَّة Leishmania، ويمكن أن يصيب الجلد (داء اللِّيشْمانِيّات الجلدي)، والأغشية المخاطية (داء اللِّيشْمانِيّات المخاطي الجلدي)، والجملة الشبكية البطانيّة (داء اللِّيشْمانِيّات الحشوي أو الكالازار).

يكون دور الحضانة 2–6 أشهر عموماً ولكنه يمكن أن يتراوح ما بين 10 أيام وعدة سنوات، وتتشكل آفة أولية لدى بعض المرضى قبل أشهر من ظهور الأعراض الأخرى. تتكاثر لَيْشُمانات amastigotes من أنواع اللِّيشْمانِيَّة ببطء في البَلاعِم قرب موضع الحقن، وتدخل بعض البلاعم المصابة بالعدوى إلى مجرى الدم وتصل إلى الأحشاء حيث تتكاثر الليشمانات بسرعة.

من الناحية السريرية تتميز الأدوار المبكرة لداء الليشمانيات الحشوي بحمى مزمنة غير منتظمة، وسعال، وإسهال، ونزف من الأغشية المخاطية، وعداوى ثانوية؛ وتحدث لاحقاً ضَخامة الطحال والكبد وأحياناً العقد اللمفية، وفقد الوزن و–لدى بعض المرضى– نقص التَّصَبُّغ اللُّطْخِيّ للجلد.

تتميز داء الليشمانيات الجلدي بقرحات جلدية قد تكون وحيدة أو متعددة، ويمكن أن تظهر في بعض أشكال داء الليشمانيات الجلدي لُوَيْحات أو حَطاطات أو عُقَيْدات في أجزاء مختلفة من الجسم.

يمكن أن تكون الأعراض السريرية لداء الليشمانيات مشابهة لتلك الموجودة في داء البلهارسيات والملاريا المزمنة والابيضاض المزمن.

مصادر العدوى وطرق الانتقال

تكون وبائيات المرض ذات ملامح خاصة مميزة في كل إقليم وتختلف من منطقة جغرافية لأخرى.

- في الأمريكتين: تنتشر العدوى بلدغة الذبابة الفاصِدَة المُسَمّاة اللوتْزومِيَّة الطويلة اللوامِس Lutzomyia longipalpis، ويتغذى الناقل على الكلاب والحيوانات البرية وبشكل أقل على البشر؛ ويمكن أن يوجد خارجاً في الريف وكذلك في داخل المنازل، ويحدث المرض بشكل رئيسي في المناطق الريفية.
- في الهند: البشر هم المستودع الرئيسي.
- في حوض البحر المتوسط ومنطقة الخليج: الكلاب هي المستودع الرئيسي والنواقل هي أنواع مختلفة من جنس الفاصِدَة Phlebotomus.
- في السودان: وُجد أن القوارض البرية واللواحِم هي مستودعات للطفيلي.

يمكن أن يحدث الانتقال داخل المنازل والتي تُكَوِّن بؤراً صغيرة للعدوى.

فحص لطاخات من فلعات (شقوق) الجلد لتشخيص داء اللّيشْمانِيّات الجلدي

المبدأ

يُشَخّص داء الليشمانيات الجلدي بإظهار دور اللّيْشَمانَة النموذجي للطفيلي في لطاخات فلعات الجلد من القرحات.

لقرحة داء الليشمانيات النموذجية حافةٌ بارزة حين حدوثها، وتؤخذ نماذج فلعات الجلد من حافة القرحة.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح
- مشرط
- شاش
- رفرف شرائح
- قلم ماسي
- إيثانول 70%
- ميثانول
- ملون غيمزا (الكاشف رقم 29).
- ماء مدروء فسفاتي، الباهاء 6.8 PH (الكاشف رقم 43).

للاستعمال يُخَفَّف ملون غيمزا في الماء المدروء الفسفاتي (حجم 1 من الملون إلى 19 حجماً من الماء المدروء).

الطريقة

أخذ النماذج

1. تُنَظَّف حافة القرحة باستعمال ماسحة مغموسة في الإيثانول، وتُستعمل رفادة من الشاش لضغط حافة القرحة بشدة قدر الإمكان لإبراز منطقة خالية من الدم.
2. يُستعمل المشرط لعمل شق سطحي على طول حافة القرحة بطول حوالي 0.5 سم وعمق 2–3 مم. يُثابر على العَصْر ويُدار المشرط إلى الجانب المسطح وتُسْحَج قاعدة الشق بلطف بذروة نَصْل المشرط، وتؤخذ الخلايا النسيجية ولكن مع تجنب سحب الدم.
3. تُفْرَش المادة المأخوذة من ذروة النصل على شريحة بحركة دائرية لتغطية منطقة بقطر 5–7 مم، وتُترك اللطاخة لتجف في الهواء وتُعَنْوَن الشريحة بقلم ماسي.

تلوين اللطاخات

1. تُثبت اللطاخة المجففة في الهواء بغمر الشريحة بالميثانول المطلق لمدة دقيقتين.
2. يُكَبُّ الميثانول وتُغْمَرُ الشريحة بملون غيمزا المُخَفَّف لمدة 20 دقيقة.
3. تُشطف الشريحة في الماء المدروء الفسفاتي وتُترك لتُسْتَنْضَب وتجف.

الفحص المجهري

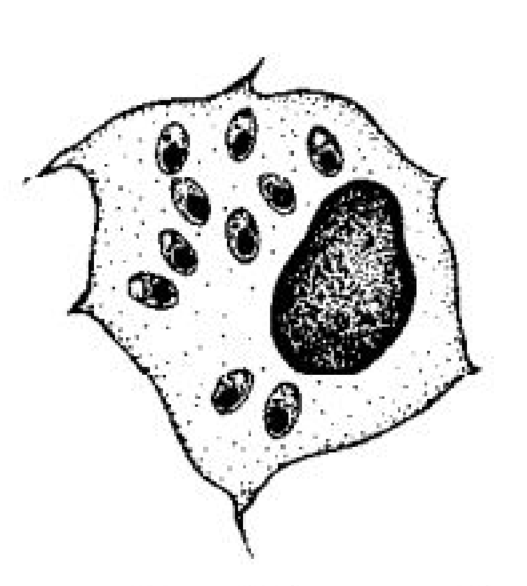
يتم الفحص المجهري باستخدام الشيئية الغاطسة 100×.

يمكن أن توجد لَيْشْمانَات أنواع الليشمانية داخل الخلايا في البَلاعِم أو تتوضع بشكل منفصل بين الخلايا؛ وهي تقيس 2–4 مكم وتكون ذات نواة بارزة ومنشأ للحركة عصوي الشكل (الشكل 166.4)، ويتلون كُلٌّ من النواة ومنشأ الحركة بالأحمر وتتلون الهيولى بالأزرق الشاحب.

تُسَجَّل النتيجة في التقرير كما يلي "لَيْشْمانَات أنواع الليشمانية موجودةٌ" أو "غير موجودة".

اختبار هُلامَة الفورمول لتحري داء اللِّيشْمانيّات الحشوي

هذا الاختبار هو مُشْعِر غير نوعي لمستويات الغاماغلوبولين المزدادة التي تُرى في معظم – ولكن ليس في كل – المرضى المصابين بداء الليشمانيات الحشوي.



الشكل 166.4. لَيشْمانات أنواع اللِّيشْمانِيَّة.

المواد والكواشف

- أنابيب اختبار
- رفوف أنابيب اختبار
- منبذة
- أنابيب تنبيذ
- فورمالين (فورمالدهيد 37%)

الطريقة

1. يؤخذ 2–5 مل من الدم في أنبوب ويُترك ليَتَجَلَّط.
2. يُفصل المصل بتنبيذ الأنبوب لمدة 3 دقائق بقوة نابذة 5000 جاذبية أو بترك الأنبوب طوال الليل في ثلاجة أو على منضدة العمل.
3. يُمَص 1 مل من المصل الصافي إلى أنبوب صغير.
4. يُضاف 2 أو 3 قطرات من محلول الفورمالدهيد 40% إلى المصل، ثم يُترك الأنبوب قائماً لمدة 30 دقيقة

النتائج

تبدو النتيجة الإيجابية بتَهَلُّم المصل: يصبح صلباً وينقلب إلى اللون الأبيض وذلك عادةً بعد نحو 5 دقائق.

تُسجل نتيجة سلبية عندما لا يحدث تهلم أو ابيضاض المصل.

ملاحظة: تُشاهد التراكيز المزدادة للغاماغلوبولين في المصل أيضاً بعد العدوى بالتهاب الكبد B (راجع الفقرة 8.11) وفي بعض الأمراض الخبيثة كالورم النقوي المتعدد وداء فالدنستروم.

5. الجرثوميات

1.5 مقدمة

لايكون الفحص المجهري المباشر للطاخات في العادة كافياً لاستعراف (تعيين الهوية) النوع الجرثومي، بل إن الاستعراف الدقيق لا يمكن التوصل إليه إلا بالزرع؛ ولذلك فإن لأخذ النماذج وإرسالها إلى المختبرات المرجعية أهميةً قصوى. على أن الفحص المجهري المباشر للطاخات الملونة هو وسيلة كُفْأة لدراسة وجود الجراثيم في السوائل الحيوية التي هي في العادة عقيمة ،ووجود الجراثيم في النماذج من مصادر أخرى . ففي مثل هذه الحالات يمكن أن يزودنا الفحص المباشر بمعلومات قَيِّمَة تفيد في التشخيص والمعالجة الفورية ومكافحة المرض، مثلاً:

- النماذج المأخوذة من المرضى الذكور المصابين بالتهاب الإحليل في دور مبكر يمكن أن تستعمل لتشخيص العدوى بالمكورات البنية بدرجة كبيرة من التأكيد (ولكنه في الإناث أصعب بكثير).
- الفحص المجهري المباشر للطاخات البلغم أو القشع هو طريقة عملية وفَعَّالة لاكتشاف الحالات المُعْدِيَة من التدرن (السل).
- يُستعمل الفحص المجهري للسائل النخاعي (الدماغي الشوكي) في استعراف الجراثيم أو الفطور التي تسبب التهاب السحايا (الفقرة 3.3.8)

كما أن تشخيص بعض الأمراض ممكن من خلال التفاعلات السيرولوجية (المصلية) كما في الزُّهْرِيّ (السفلس) (الفقرة 10.11)، والطرائق المصلية مهمة كذلك في حالات التَّرَصُّد الوبائي والكشف المبكر للأمراض الناجمة عن الجراثيم التي تكون صعبة الزرع (مثل المتفطرة السلية).

2.5 تحضير اللطاخات وتثبيتها

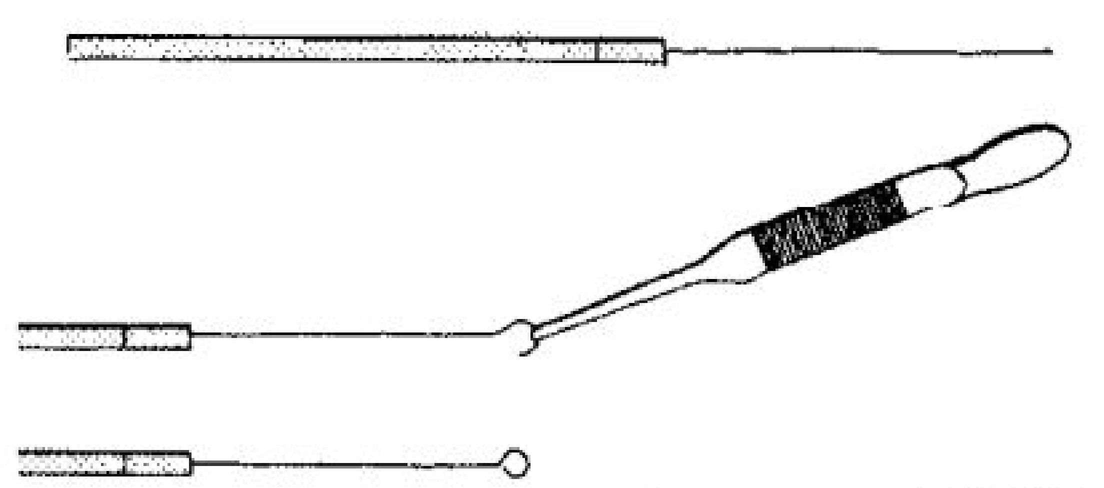
1.2.5 المبدأ

تُحضَّر العينة التي ستُفْحَص (قيح، بلغم أو قشع، ثُبادَة البول، السائل النخاعي (الدماغي الشوكي) ، الخ...) كما يلي:

- تُفْرَش العينة بشكل طبقة رقيقة على شريحة زجاجية.
- تُتْرَك لتجف تماماً.
- تُثَبَّت بالميثانول 70% أو بتسخينها قبل أن تُلَوَّن.

2.2.5 المواد والكواشف

- غانة الزَّرْع: وهي سلك معدني (عادةً من خليطة من النيكل والكروم) مُثَبَّت على مقبض ومَلْوِيّ بشكل غانة (عُرْوَة) في نهايته الحرة. تُعْمَل العروة بالمِلْقَط مع الاعتناء بأن تكون مُمَرْكَزَة (الشكل 1.5)، وينبغي أن يكون القطر الفعلي للغانة 2 م.
- مجهر
- شرائح الزجاجية
- ساترات
- مِلْهَب بنْزِن أو مصباح كحولي.
- 70% ميثانول



الشكل 1.5. عمل غانة (عروة) تلقيح.

3.2.5 تحضير اللطاخات

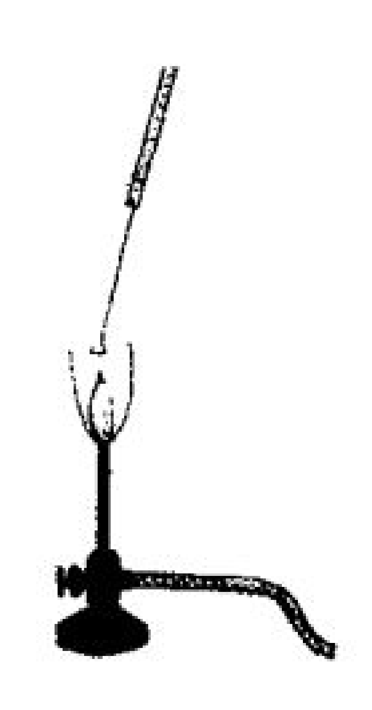
1. تُلَهَّب الغانة (العروة) حتى تَحْمَرّ: تُمسك الغانة فوق الجزء الأزرق من اللهب مباشرة بحيث تكون عمودية بقدر الإمكان (الشكل 2.5)، وتُتْرَك لتَبْرُد (يُعَدّ حتى الرقم 20).
2. يؤخذ جزء من النموذج المراد فحصه بوضع الغانة مسطحة على سطح السائل (الشكل 3.5).
3. تُرَقَّم شريحة ثم تُضْغَط الغانة وهي مسطحة على مركز الشريحة (الشكل 4.5).
4. أثناء الاستمرار في مَسْك الغانة مسطحة في مواجهة الشريحة، تُحَرَّك الغانة بحيث ترسم شكل حلزون بيضاوي خارج من المركز (الشكل 5.5).

يُتْرَك فراغ بين النموذج وبين كلٍّ من جوانب الشريحة الأربعة، ثم تُتْرَك الشريحة لتجف تماماً في الهواء.

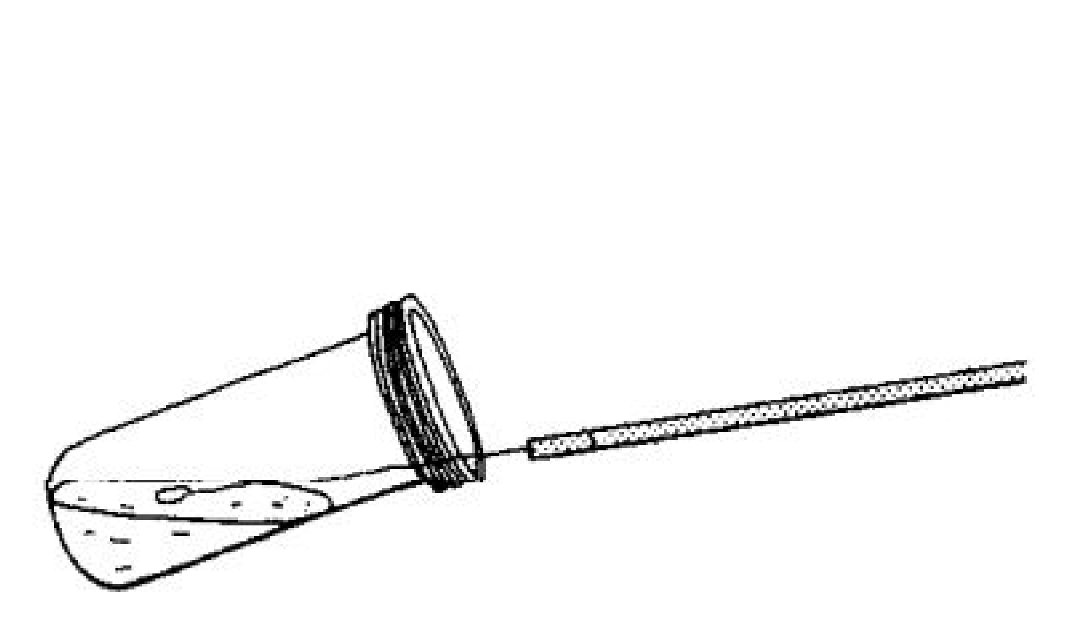
5. تُكَرَّر الخطوة 1.

قد يتلقى المختبر في بعض الأحيان شرائح غير مُعَلَّمَة من مصادر خارجية. ولمَعْرِفَة الوجه المحتوي على اللطاخة من الشريحة غير المُعَلَّمَة تُمَال الشريحة بحيث تعكس الضوء الآتي من النافذة:

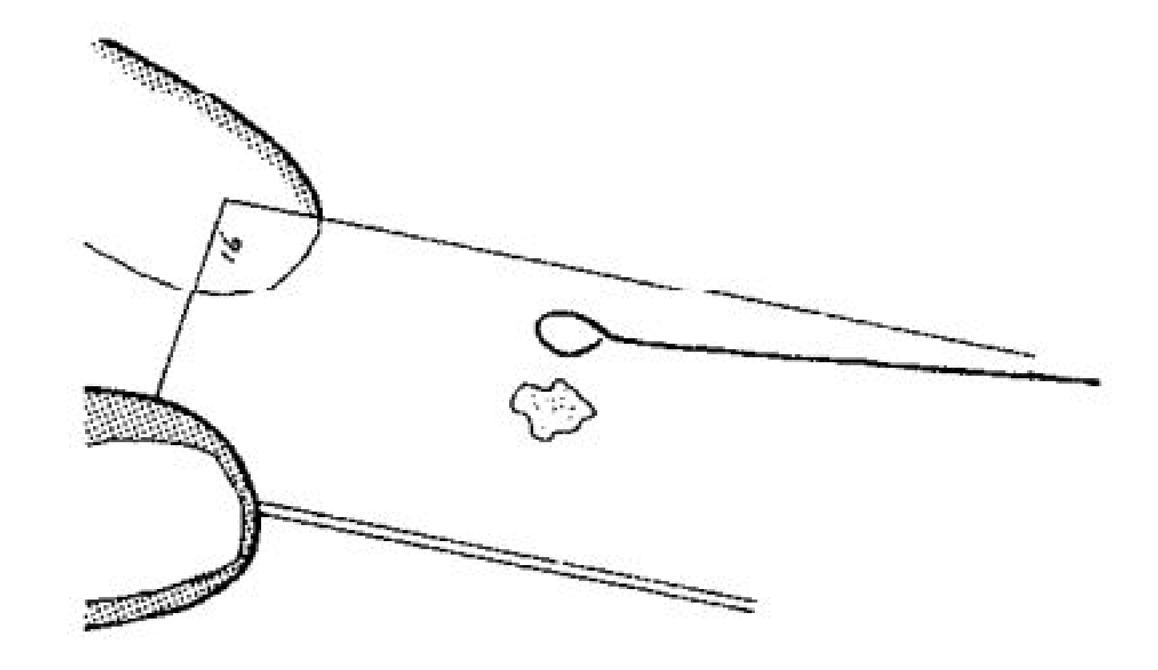
- فالوجه الخالي من اللطاخة يَلْمَع.
- والوجه المحتوي على اللطاخة لا يعكس الضوء.



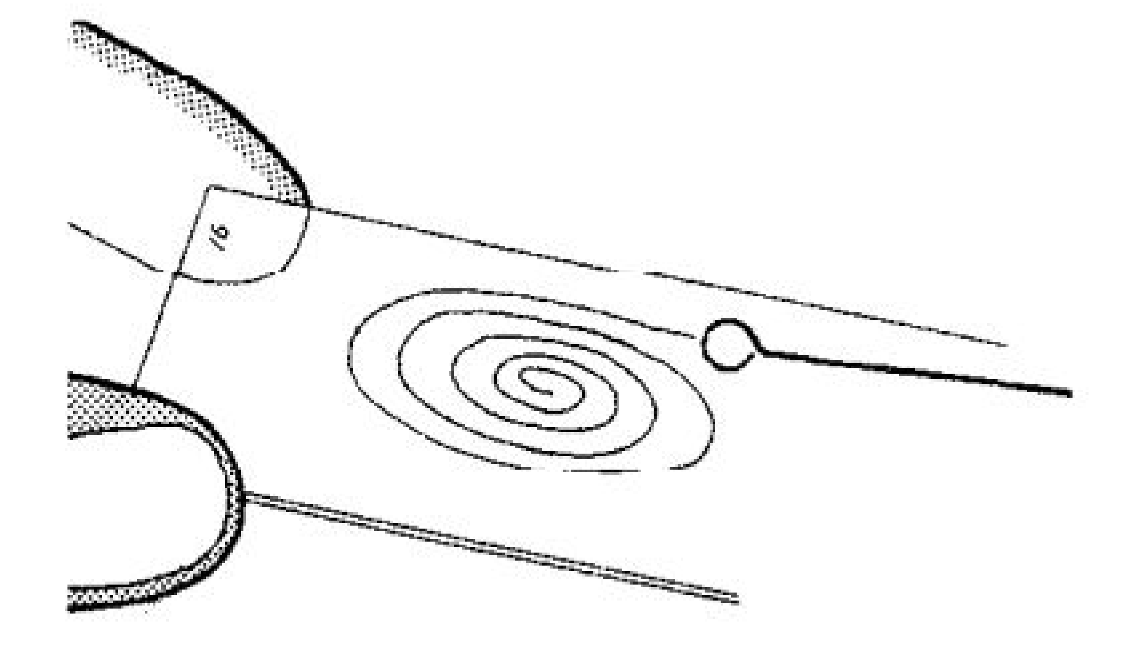
الشكل 2.5. تلهيب غانة (عروة) تلقيح.



الشكل 3.5. أخذ عينة باستعمال غانة تلقيح.



الشكل 4.5. نقل عينة إلى شريحة.



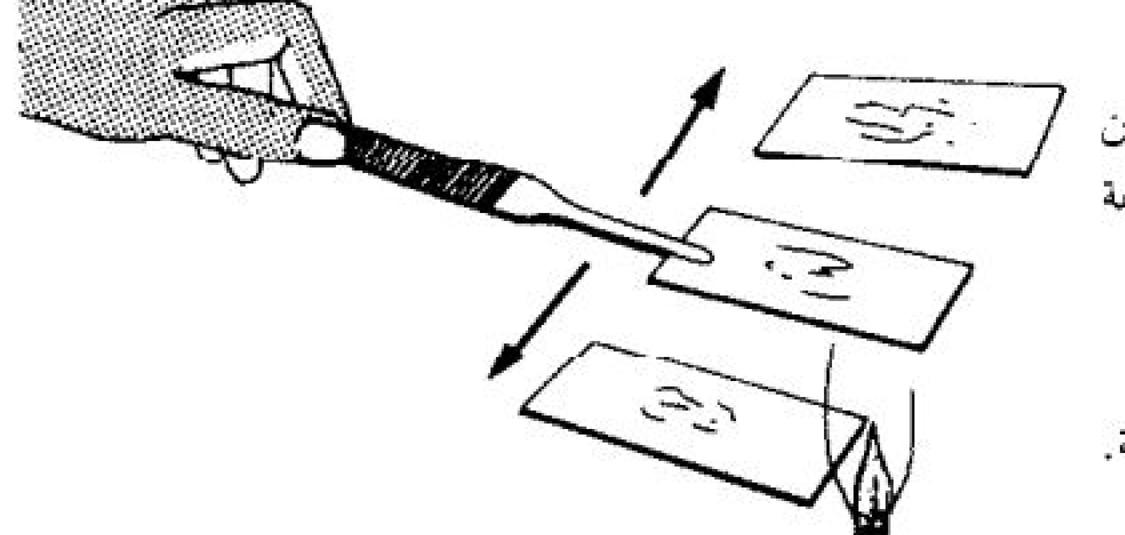
الشكل 5.5. تحضير لطاخة.

4.2.5 تثبيت اللطاخات

بعد أن تجف اللطاخة في الهواء تماماً تُثبّت بتغطية الشريحة ببضع قطرات من الميثانول 70% لمدة دقيقتين أو بتمرير ظهر الشريحة من خلال اللهب بسرعة ثلاث مرات (الشكل 6.5).

يمكن تلوين اللطاخة المثبتة كما هو موصوف في الفقرة 3.5 .

من المفيد أحياناً رسم دائرة حول اللطاخة بقلم شمعي وبذلك تمكن رؤيتها بسهولة.



الشكل 6.5. تثبيت لطاخة فوق اللهب.

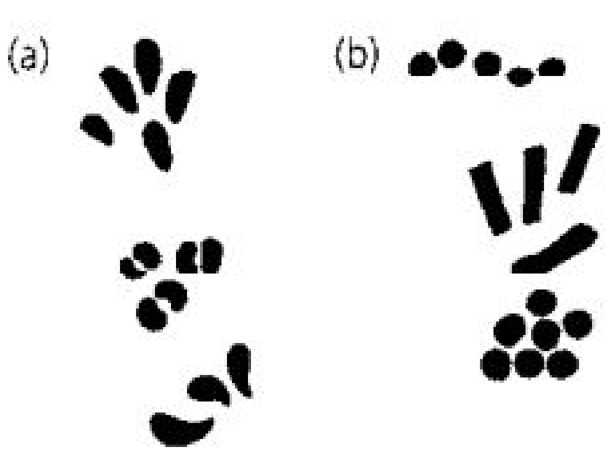
3.5 طرائق التلوين

1.3.5 تلوين غرام

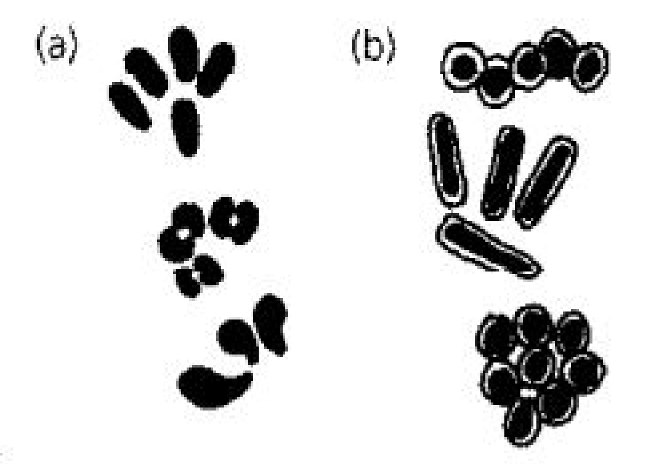
يُمكّنُ تلوين غرام من استعمال اللطاخة المفحوصة بالمجهر لتحري وجود الجراثيم والخلايا القيحية وعصيات فِنْسان والمبيضة البيضاء. وإن الجراثيم المُعايِشَة – والتي تكون موجودة دائماً ـ ليست مهمة بما يكفي للتفكير بإجراء فحص أو تقرير إضافي.

المبدأ

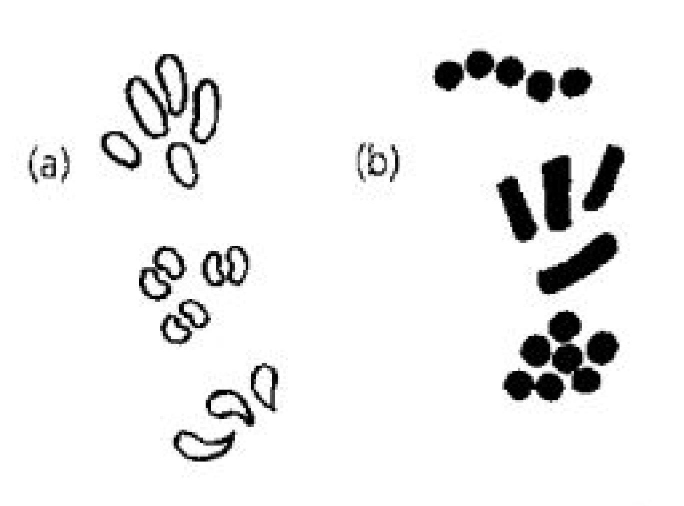
1. يلون ملونُ البَنَفْسَجِيَّة المُتَبَلْوِرَة كلَّ الجراثيم بالبنفسجي القاتم (الشكل 7.5).
2. يُثَبِّت المحلولُ اليودي اللونَ البنفسجيَّ في الجراثيم أو يُرَسِّخُه ترسيخاً قوياً أو ضعيفاً (الشكل 8.5).
3. الإيثانول 95%:
   - يُزيل لونَ بعض الجراثيم عندما لا يكون ملونُ البَنَفْسَجِيَّة المُتَبَلْوِرَة مُثَبَّتاً بقوة بالمحلول اليودي (الشكل 9.5 (a)؛
   - لا يزيل لون الجراثيم الأخرى عندما يكون ملونُ البَنَفْسَجِيَّة المُتَبَلْوِرَة مُثَبَّتاً بقوة بالمحلول اليودي (الشكل 9.5 (b).
4. محلول الكربول فوكسين أو الحُمْرَة المُتعادِلَة أو السافرانين (الزعفرانين) (لون وردي):
   - يعيد تلوين الجراثيم (باللون الوردي) التي زال لونها بالإيثانول (الشكل 10.5 (a) .
   - لا تأثير له على بقية الجراثيم التي تحتفظ باللون البنفسجي القاتم (الشكل 10.5 (b).



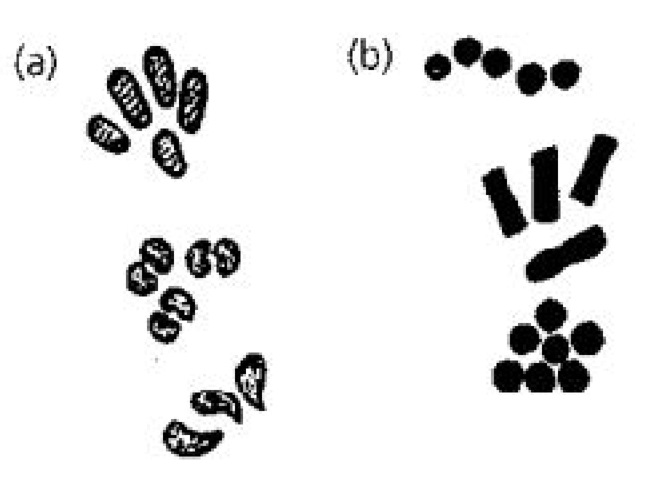
الشكل 7.5. تفاعل تلوين غرام: التلوين بالبنفسجية المتبلورة: a: جراثيم سلبية الغرام، b: جراثيم إيجابية الغرام.



الشكل 8.5. تفاعل تلوين غرام: التثبيت باستعمال المحلول اليودي: a: جراثيم سلبية الغرام، b: جراثيم إيجابية الغرام.



الشكل 9.5. تفاعل تلوين غرام: إزالة اللون بالإيثانول: a: جراثيم سلبية الغرام، b: جراثيم إيجابية الغرام.



الشكل 10.5. تفاعل تلوين غرام: إعادة التلوين بمحلول الكربول فوكسين أو الحُمْرَة المُتعادِلَة أو السافرانين: a: جراثيم سلبية الغرام، b: جراثيم إيجابية الغرام.

المواد والكواشف

- مجهر
- رفرف شرائح
- محلول البَنَفْسَجيَّة المُتَبَلْوِرَة ، هوكر المعدل (الكاشف رقم 18).
- محلول لوغول اليودي 1% (الكاشف رقم 36).
- مزيل اللون الأسيتون–الإيثانول (الكاشف رقم 4)
- محلول الكربول فوكسين لتلوين تسيل –نيلسن (الكاشف رقم 16) المُخَفَّف 10 أضعاف بالإيثانول 95%، أو محلول الحُمْرَة المُتَعادِلَة 0.1% (الكاشف رقم 40)، أو محلول السافرانين (الزَّعْفَرانين) (الكاشف رقم 47).

الطريقة

1. تُثَبَّت اللطاخة كما هو موصوف في الفقرة 4.2.5.
2. تُغطى اللطاخة بمحلول البنفسجية المتبلورة لمدة 60 ثانية.
3. يُشطف الملون بالماء النظيف. تُسْتَنْضَب الشريحة (بإزالة لونها) وتُغطى اللطاخة بمحلول اليودي لمدة 60 ثانية.
4. يُشطف المحلول اليودي بالماء النظيف. يُزال اللون بسرعة بمحلول الأسيتون–الإيثانول، ويلزم لذلك 2–3 ثوانٍ فقط.
5. تُغطى اللطاخة بالكربول فوكسين لمدة دقيقتين.
6. يُشطف الملون بالماء النظيف. وتوضع الشريحة قائمةً في رَفْرَف للشرائح لتُستنضب وتجف في الهواء.

الفحص المجهري

تُفحص اللطاخة أولاً باستعمال الشيئية 40× لمشاهدة توزع اللطاخة ثم بالشيئية الغاطسة 100×.

الأحياء الإيجابية الغرام

تظهر الأحياء الإيجابية الغرام بلون أرجواني قاتم (الشكل 11.5) (كالمكورات العنقودية، والمكورات العقدية، والمُكَيِّرات، والمكورات الرئوية، والمكورات المعوية، وعصيات الخناق، وعصيات الجمرة الخبيثة).



الشكل 11.5. جراثيم إيجابية الغرام.

الشكل 12.5. جراثيم سلبية الغرام.

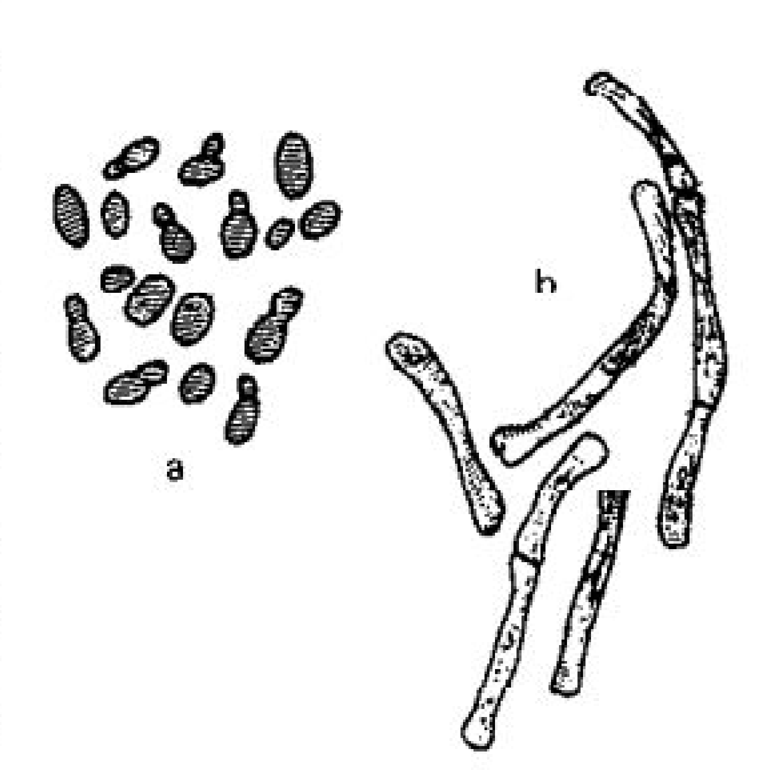
الأحياء السلبية الغرام

تظهر الأحياء السلبية الغرام بلون أحمر (الشكل 12.5) (كالمكورات البنية، والمكورات السحائية، والعصيات القولونية، والشيغيلات، والسلمونيلات، وضمات الكوليرا).

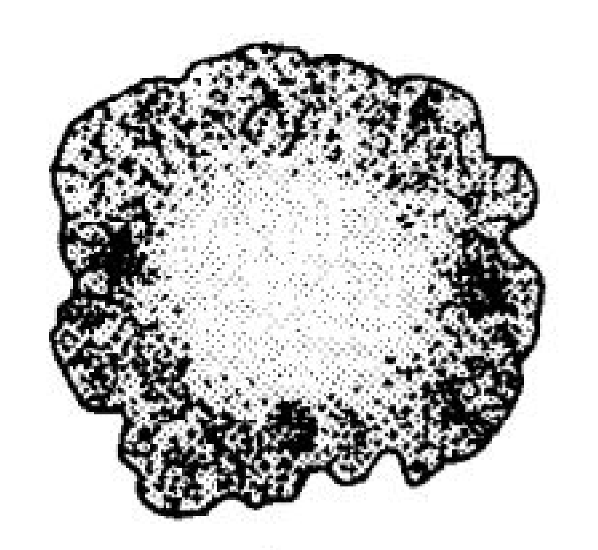
استعراف الأحياء النوعية

تظهر المُبَيِّضَة البَيْضاء بشكل أبواغ كبيرة (بقطر 2–4 مكم) بيضوية أو مدورة إيجابية الغرام (الشكل 13.5 (a) مع خيوط تشبه الأفطورَة mycelium مختلفة الطول وذات نهايات مدورة (الشكل 13.5 (b).

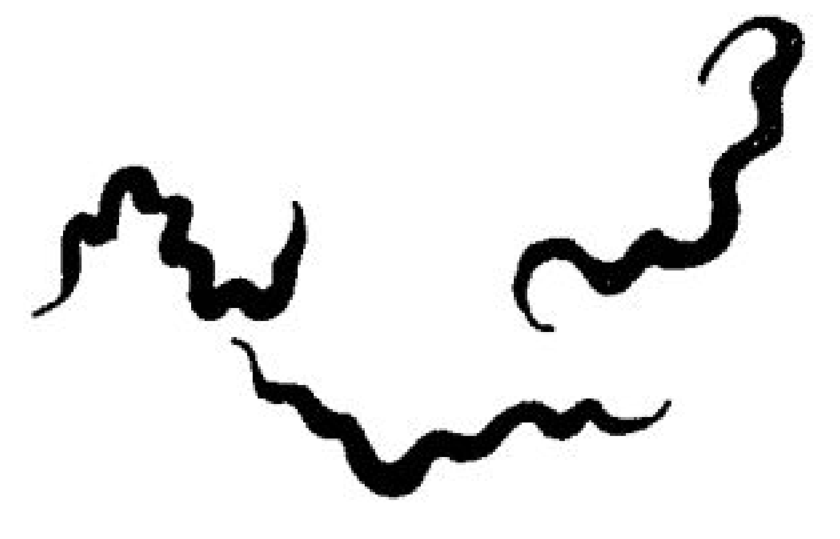
تُشاهد "الشُّعَيَّات Actinomycetes" بشكل حبيبات كبيرة تُرى أحياناً بالعَيْن المُجَرَّدَة (بلون أبيض إلى أصفر)، ويكون مركزها سلبي الغرام ومحيطها إيجابي الغرام (الشكل 14.5)؛ وهي تُشاهد في القيح المأخوذ من الجلد، والبلغم أو القشع، الخ...



الشكل 13.5. المبيضة البيضاء.



الشكل 14.5. «الشُعَيْات».



الشكل 15.5. عصيات فِنْسان.

تُرى عصيات فِنْسان بشكل مُلْتَويات وعصيات مغزلية الشكل سلبية الغرام (الشكل 15.5).

يجب ألا تُسَجَّل جراثيم أخرى إذ أنه يوجد العديد من الجراثيم المُعايِشَة التي يمكن أن تلتبس مع الجراثيم الممرضة.

مصادر الخطأ

يمكن أن يحدث تفاعل غرام إيجابي كاذب بسبب:

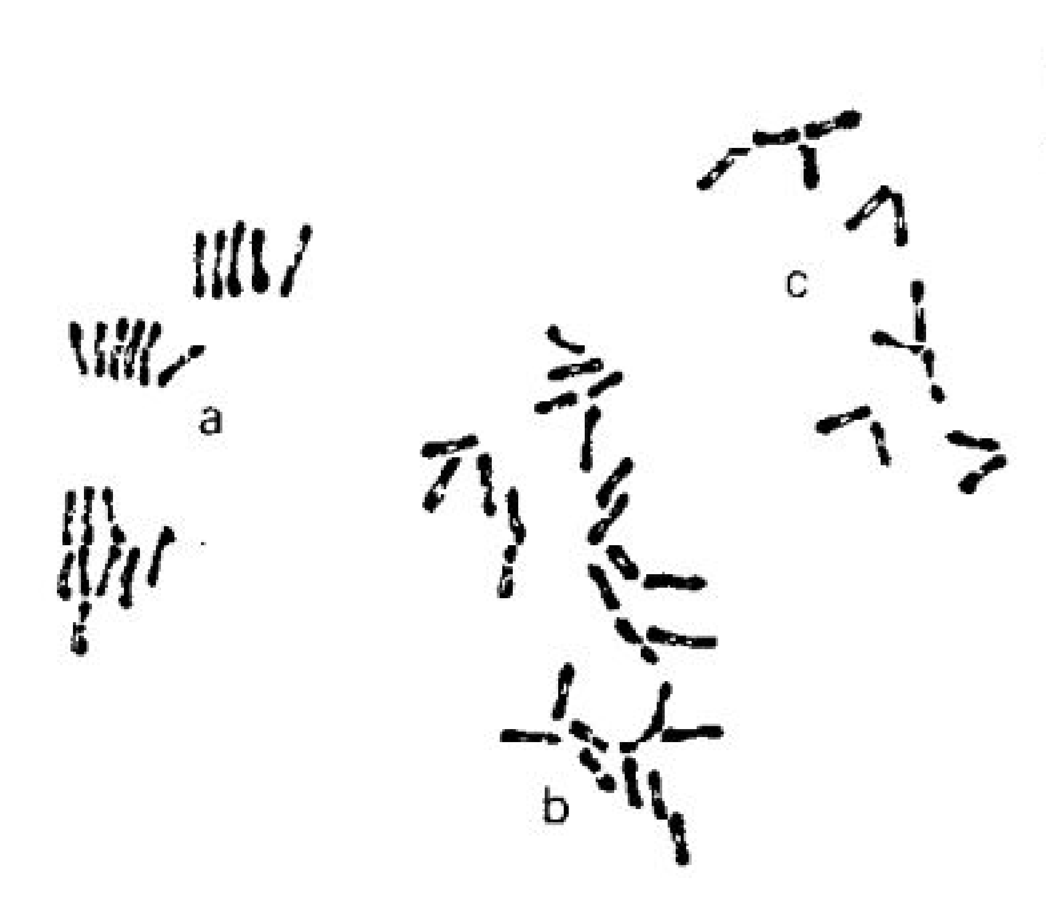
- تثبيت اللطاخة قبل أن تجف.
- كون اللطاخة ثخينة جداً.
- وجود ثُفَالَة في أسفل قارورة البنفسجية المتبلورة (ينبغي ترشيحها قبل الاستعمال).
- أنّ محلول غرام اليودي لم يُشْطَف كلياً.
- أن محلول الأسيتون–الإيثانول لم يُتْرَك على الشريحة مدةً كافية.
- أن محلول الكربول فوكسين (أو الزعفرانين أو الحمرة المتعادلة) كان قوياً جداً أو تُرِك على اللطاخة مدةً طويلة.

يمكن أن يحدث تفاعل غرام سلبي كاذب بسبب:

- أن المحلول اليودي لم يُتْرَك على الشريحة مدةً كافية.
- أن محلول الأسيتون–الإيثانول تُرِكَ على الشريحة مدةً طويلة أو لم يُشطف بشكل مناسب.

2.3.5 التلوين بملون ألبرت (لكشف الوَتَدِيَّة الخُناقِيَّة)

عند الاشتباه بالخُناق يجب أن تُلَوَّن لطاخة بلغم أو قشع بملون ألبرت، ويُستعمل هذا الملون لإظهار الحبيبات المُتَبدِّلَة اللون القاتمة التلون التي تظهر في عصيات الوتدية الخناقية (الشكل 16.5).



الشكل 16.5. الوتدية الخناقية: يمكن لعصيات الوتدية الخناقية أن تنتظم في صفوف (a) أو بشكل V (b) أو تنضم في زوايا مَعطِيَةً مظهر الحروف الصينية (c).

المواد والكواشف

- مجهر
- رفرف شرائح
- ملون ألبرت (الكاشف رقم 7).

الطريقة

1. تُثبت اللطاخة كما وُصف في الفقرة 4.2.5.
2. تُغطى اللطاخة بملون ألبرت لمدة 3–5 دقائق.
3. يُشطف الملون بالماء النظيف. وتوضع الشريحة قائمةً في رَفْرَف للشرائح لتُسْتَنْضَب وتجف في الهواء.

الفحص المجهري

تُفحص اللطاخة أولاً باستعمال الشيئية 40× لرؤية توزع اللطاخة ثم تُستعمل الشيئية الغاطسة 100×.

تبدو الوتدية الخُناقية كعصيات خضر (الشكل 16.5) تحتوي على حبيبات متبدلة اللون خضراء مُسْوَدّة، ويمكن للعصيات أن تنتظم في صفوف (a) أو بشكل قولط (b) أو تنضم في زوايا مُعْطِيَةً مظهرَ الحروف الصينية (c). إن وجود عصيات نحيفة تحتوي على حبيبات متبدلة اللون هو بيّنة كافية للبدء بعلاج الخُناق.

إذا تم الاشتباه بالخناق فيجب إرسال نموذج إلى مختبر بكتريولوجي للزرع (الفقرة 4.4.5).

3.3.5 التلوين بملون تسيل–نِلْسن (لكشف العصيات الصامدة للحمض)

يُستعمل ملون تسيل–نلسن لاستعراف المُتَفَطِّرات والبيوض المُتَكَيِّسة لخفيّة الأبواغ Cryptosporidium (الفقرة 2.3.4، ص 123)

المبدأ

عندما تُلَوَّن المُتَفَطِّرات والبيوض المُتَكَيِّسة لأنواع خَفِيّة الأبواغ بمحلول ساخن قوي للكربول فوكسين فإنها تُقاوم إزالة اللون بمحلول للحمض أو الإيثانول الحمضي وتتلون بالأحمر، أما النسج والأحياء الأخرى فيُزال لونها بمحلول الإيثانول الحمضي وتُوَضَّح بمُلَوِّن مُباين كزرقة الميثيلين التي تلونها بالأزرق.

إن المُتَفَطِّرة الجُذاميّة والبيوض المُتَكَيِّسة لأنواع خَفِيّة الأبواغ تقاوم فقط إزالة اللون بالمحاليل الضعيفة للحمض أو الإيثانول الحمضي، وهي تُوَضَّح باستعمال طريقة تسيل–نلسن المُعَدَّلة (الجدول 1.5).

تُدعى أنواعُ المُتَفَطِّرة والبيوض المُتَكَيِّسة لأنواع خَفِيّة الأبواغ "صامِدَةً للحمض" نتيجة مقاومتها لإزالة اللون بالمحلول الحمضي، وهي لا تتلون جيداً بملون غرام أو بالملونات البسيطة كزرقة الميثيلين.

المواد والكواشف

- مجهر
- مصباح كحولي أو ملهب بنزن .
- رفوف شرائح
- ملاقط
- محلول الكربول فوكسين لملون تسيل –نلسن (الكاشف رقم 16) (يُرَشَّح قبل الاستعمال).

الجدول 1.5. الأحياء الملونة بـ تسيل– نلسن.

العينة	الحي
البلغم أو القشع	المتفطرة السلية
	المتفطرة البقرية
الجلد	المتفطرة الجذامية
	المتفطرة المُقَرِّحَة
البول	المتفطرة السلية
	المتفطرة البقرية
البراز	أنواع خفية الأبواغ
غسل المعدة	المتفطرة السلية
	المتفطرة البقرية

الجدول 2.5. تسجيل عدد العصيات الصامدة للحمض الموجودة.

عدد العصيات الصامدة للحمض الموجودة في الساحة المجهرية	النتيجة
< 0.1 (< 10 في 100 ساحة)	يَعيّن العدد الموجود في 100 ساحة
0.1–1 (10–100 في 100 ساحة)	+
1–10	++
< 10	+++

- محلول الإيثانول الحمضي لملون تسيل–نلسن (الكاشف رقم 5).
- محلول الخُضْرَة الدُّهْنَجِيَّة 0.1% (الكاشف رقم 31) محلول بنسبة 1:1 في الماء المقطر أو محلول زرقة الميثيلين (الكاشف رقم 39).

الطريقة

1. تُثبت اللطاخة كما وُصف في الفقرة 4.2.5.
2. تُغطى اللطاخة بملون الكربول فوكسين المُرَشَّح، ويُستعمل مِلْقَط لتسخين الشريحة بلطف فوق مصباح كحولي أو مِلْهَب بنزن إلى أن يبدأ الملون بالتبخر (عند حوالي 60 س؛ مع تجنب فرط التسخين).
3. يُترك الملون على الشريحة لمدة 5 دقائق.
4. يُشطف الملون بالماء النظيف. تُغطى اللطاخة بالإيثانول الحمضي لمدة 5 دقائق أو حتى تصبح اللطاخة بلون وردي شاحب.
5. تُغسل الشريحة جيداً في الماء النظيف. تُغطى اللطاخة بالخُضْرَة الدُّهْنَجِيَّة أو زرقة الميثيلين لمدة دقيقة–دقيقتين.
6. يُشطف الملون بالماء النظيف. توضع الشريحة قائمةً في رَفْرَف للشرائح لتُسْتَنْضَب وتجف في الهواء، مع تجنب تلطيخ اللطاخة.

الفحص المجهري

تُفحص اللطاخة تحت المجهر، في البدء باستعمال الشيئية 40× لرؤية كيفية توزع اللطاخة، ثم تُفحص اللطاخة منهجياً بالشيئية الغاطسة 100× للبحث عن العصيات الصامدة للحمض (عصيات حمراء). تُفحص اللطاخة من إحدى النهايتين إلى النهاية الأخرى في خطوات بحيث يتم فحص كامل اللطاخة. يُعَدّ عدد العصيات الصامدة للحمض في الساحة المجهرية (أو في 100 ساحة مجهرية إذا وُجِدَت عصيات صامدة للحمض قليلة جداً).

قبل الانتقال إلى شريحة أخرى تُمْسَح الشيئية وتُنظف بمنديل ورقي للعدسات لمنع نقل العصيات الصامدة للحمض إلى شريحة أخرى.

إذا أمكن رؤية عصيات حمراء فتسَجّل النتيجة: "العصيات الصامدة للحمض موجوده"، ويسجل عدد العصيات الصامدة للحمض الموجودة كما وصف في الجدول 2.5.

إذا لم تُشاهد عصيات صامدة للحمض فتُسجل النتيجة: "العصيات الصامدة للحمض غير موجودة".

4.3.5 التلوين بملون ويسون (لكشف اليَرْسَنِيَّة الطاعونية)

يُستعمل ملون ويسون wayson لاستعراف اليَرْسَنِيَّة الطاعونية في رُشافَة الدَّبْل bubo (الفقرة 10.5).

المواد والكواشف

- مجهر
- رفرف شرائح
- 70% ميثانول
- ملون ويسون (الكاشف رقم 63)

الطريقة

1. تُثبت اللطاخة بالميثانول لمدة دقيقتين.
2. تُغطى اللطاخة بملون ويسون لمدة 15 ثانية.
3. تُغسل الشريحة في الماء النظيف.
4. توضع الشريحة قائمةً في رَفْرَف للشرائح لتُسْتَنْضَب وتجف في الهواء.

الفحص المجهري

تُفحص الشريحة أولاً باستعمال الشيئية 40× للتحقق من توزع المادة ثم تُستعمل الشيئية الغاطسة 100×.

تبدو اليرسنية الطاعونية كأحياء (جراثيم) ثنائية القطب تتلون بالأزرق ذات نهايات وردية.

5.3.5 التلوين بزرقة الميثيلين بحسب لوفلر loeffler (لكشف العَصَويَّة الجَمْريَّة)

تُستعمل زرقة الميثيلين بحسب لوفلر لتلوين العصوية الجمرية التي تسبب الجَمْرَة الخبيثة (الفقرة 11.5).

ملاحظة: الجمرة الخبيثة هي مرض معدٍ بشـدة، ولذلك يجب ارتداء قفازات وثياب واقية عند معاملة نماذج يُشْـتَبَه بكونها مصـابة بالعدوى بالجمـرة الخبيثة، كما يجب القيام بإجـراءات التلوين في مقصورة مَأمونَة.

المواد والكواشف

- مجهر
- رفرف شرائح
- محلول برمَنْغانات البوتاسيوم 4% (الكاشف رقم 46)
- زرقة الميثيلين بحسب لوفلر (الكاشف رقم 35).

الطريقة

1. تُغطى الشريحة ببرمنغانات البوتاسيوم لمدة 10 دقائق.
2. تُغسـل الشريحة في الماء النظيـف وتُغطى الشريحة بزرقة الميثيلين بحسـب لوفلر لمدة دقيقة واحدة.
3. يُشـطف الملون بالماء النظيف ،وتوضـع الشريحة قائمةً في رَفْرَف للشرائح لتجف في الهواء.

الشكل 17.5. العصوية الجمرية.

الفحص المجهري

تُفحص الشريحة في البدء باستعمال الشيئية 40× ثم تُستعمل الشيئية الغاطسة 100×.

تبدو العصوية الجمرية كعصيات زرقاء كبيرة محاطة بمحفظة بنفسجية زاهية، وتظهر العصيات بشكل سلاسل (الشكل 17.5).

4.5 فحص نماذج القشع ومَسْحات الحَلْق

يُكشف وجود أحياء مُمْرِضَة بالفحص المجهري لنماذج البلغم أوالقشع ومَسْحات الحَلْق، وتتضمن الأحياء:

- جراثيم: إيجابية الغرام وسلبية الغرام وعصيات صامدة للحمض.
- فُطْرِيَّات fungi أو خَمائِر yeasts: خيوط فُطورِيَّة مع أو من دون أبواغ، وقد تكون ممرضة أو رَمَّامَة تكاثرت في العينة بعد الجمع (من الضروري استعرافها الصحيح في مختبر مُتَخَصِّص).
- الشُّعَيَّات: حبيبات (ص 200)

- طفيليات: بيوض المثقوبات الرئوية و- نادراً جداً - بيوض البلهارسيات والديدان الكهلة لـ Mammomonogamus laryngeus (دودة ممسودة).

إن الزرع ضروري غالباً لاستعراف العوامل المعدية.

1.4.5 المواد والكواشف

- مجهر
- رفرف شرائح
- أوعية ذات عنق واسع لنماذج البلغم أو القشع مثل المرطبانات أو صناديق الورق المقوى (الفقرة 5.5.2)
- ماسحات قطنية عقيمة
- خافض لسان
- أنابيب اختبار
- بلورات كلوريد الصوديوم
- كلوريد ن - ستيل بريدينيوم
- ماء مقطر

إن أمكن تحضر مسحات القطن العقيمة في مخبر مركزي أو تتبع الطريقة التالية :

1 – تحضر عيدان رقيقة من الخشب أو أسلاك الألمنيوم بطول 18 سم وقطر 2مم . تحضر شرائح من القطن بطول 6سم وعرض 3سم وبأرق ما أمكن .
2 – يلف القطن حول أحد طرفي العود أو السلك .
3 – تعمل الماسحة بشكل مخروطي .
4 – توضع في أنبوب اختبار زجاجي يغطى بقطن غير ماص ويعقم (الفقرة 5.5.3)

2.4.5 الطريقة

أخذ النماذج

نماذج البلغم أو القشع

يجب أخذ نماذج البلغم أو القشع باكراً في الصباح



الشكل 18.5. أخذ عينة قشع.

1 – يُطلب من المريض أن يأخذ نَفَساً عميقاً ثم يَسْعُل بقوة وعمق باصِقاً ما يصل إلى فمه في الإناء (الشكل 18.5).

يُحكَم الغطاء ويُعَنْوَن الإناء باسم ورقم المريض.

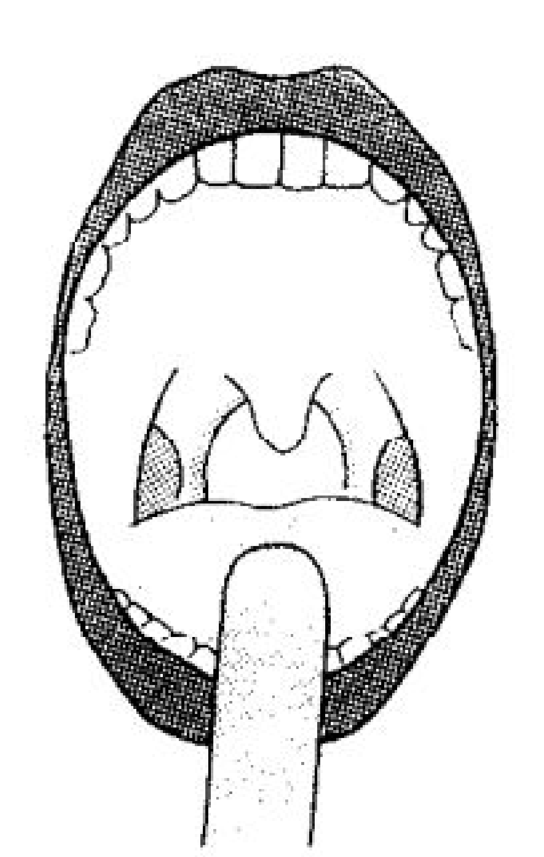
يجب التحقق من إنتاج مقدار كافٍ من البلغم أو القشع.

2 – إذا كان النموذج سيُرْسَل إلى مختبر لزرع المتفطرة السلية (الفقرة 4.4.5) يُطلب من المريض أن يتقشع مباشرةً إلى قارورة واسعة الفوهة مُلَوْلَبة الغطاء تحتوي على 25 مل من المحلول التالي:

كلوريد N– ستيل بيريدينيوم	5 غ
كلوريد الصوديوم	10 غ
ماء مقطر، إلى	1000مل

يُحكم الغطاء وتُعَنْوَن القارورة باسم ورقم المريض وتاريخ أخذ النموذج الفقرة(1.7.3)

ملاحظة هامة : اللعاب السائل المُزبد والمفرزات الآتية من الأنف، والبلعوم غير مناسبة للفحص الباكتريولوجي (الجرثومي)، ولذلك يُطلب من المريض إعطاء نموذج آخر.



الشكل 19.5. **فحص القسم الخلفي للحلق.**

أخذ نماذج الحَلْق

1. يُستعمل خافض لسان أو مِلْوَق لضغط اللسان للأسفل (الشكل 19.5)، ويُفحص القسم الخلفي للحلق.
2. يُبْحَث بعناية عن علامات الالتهاب وعن أي نَضْحَة **exudate** أو قيح أو رواسب غشائية أو قرحات.
3. تُستعمل ماسحة قطنية معقمة لمسح المنطقة المصابة بالعدوى، مع الحرص على عدم تلوث الماسحة باللعاب، ثم تُعاد الماسحة إلى أنبوب الاختبار المعقم.

تحضير الشرائح

تُهَيَّأ لطاخة مفروشة بانتظام من الماسحة على شريحتين (الفقرة 3.2.5)، ثم تُلَوَّن إحدى الشريحتين بملون ألبرت (الفقرة 2.3.5) والأخرى بملون تسيل–نِلْسِن (الفقرة 3.3.5).

3.4.5 الفحص المجهري

يُفحص البلغم أو القشع بالعين المجردة ثم بالمجهر.

يحتوي البلغم أو القشع لشخص يعاني من عدوى جرثومية عادةً على:

– مخاط ثخين مع فقاقيع هوائية.

خيوط من الفيبرين (الليفين).

– لَطْخات من القيح.

– خيوط بنية من الدم أحياناً.

بعد المُعايَنَة العيانية يُسجل مظهر البلغم أو القشع كما يلي:

– قيحي: مُخْضَرّ يحتوي على القيح؛

– مخاطي قيحي: مخضر يحتوي على كلٍّ من القيح والمخاط؛

– مُخاطاني: يحتوي على المخاط بالدرجة الأولى.

– مخاطي لعابي: يحتوي على المخاط مع مقدار صغير من اللعاب.

إذا وُجِد الدم فيجب أن يُسَجَّل هذا أيضاً.

إن عينة البلغم أو القشع المكونة بمعظمها من اللعاب لن تكون مفيدة لأي من الزرع أو الفحص المباشر.

تفحص اللطاخة الملونة بملون ألبرت كما وصف في (الفقرة 2.3.5)، فإذا شوهدت عصيات تحوي حبيبات خضراء – سوداء متغيرة اللون (الشكل 16.5) يسجل "وجود الوتديات الخناقية".

تفحص اللطاخة الملونة بـ تسيل–نلسن كما وصف في (الفقرة 3.3.5)، فإذا شوهدت عصيات حمراء يُسَجّل في التقرير "عصيات صامدة للحمض موجودة"، ويُسجل عدد العصيات الصامدة للحمض الموجودة كما وُصِف في الجدول 2.5؛ أما إذا لم تُشاهد عصيات صامدة للحمض فيُسجل في التقرير "لم تُكْتَشَف عصيات صامدة للحمض".

4.4.5 إرسال النماذج للزرع (1)

إرسال نماذج البلغم أو القشع

تُرْسَل نماذج البلغم أو القشع إلى مختبر للجرثوميات من أجل زرع المتفطرة السلية، واختبار الحساسية لمضادات المكروبات، والحَقْن في القُبَيْعات (خنازير غينيا).

يجب أن يؤخذ النموذج في مُسْتَنْبَت للنقل كما تَقَدَّم في (الفقرة 2.4.5) وأن يُرسل على الفور إلى المختبر.

زمن الحفظ الأقصى: 10 أيام.

1. انظر أيضاً الفقرة 1.7.3

إرسال نماذج الحلق

للاستقصاء الروتيني

حالما يؤخذ النموذج تُعاد الماسحة إلى أنبوب الاختبار المُعَقَّم (الفقرة 2.4.5) وتُرسل إلى مختبر الجرثوميات مباشرة لإثبات العدوى بالوتدية الخُناقية.

في حال الاشتباه بالخُناق يجب أن يُرسل النموذج في أنبوب مُعَقَّم يحتوي على المصل المُخَثَّر (الذي يجب أن يُخْتَزَن في ثلاجة)

إذا استُعمل المصل المخثر تُفْرَك الماسحة على السطح المائل بدءاً من القاع ودون إجراء تطبيق أي ضغط (الشكل 20.5)، وتُرْسَل في نفس اليوم.

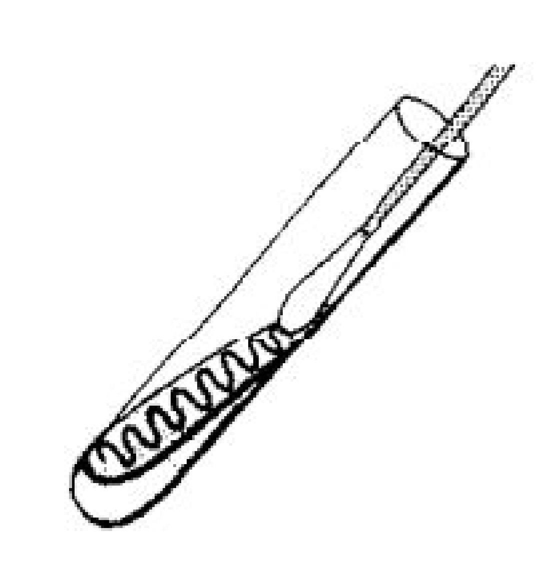
زمن النقل الأقصى: 24 ساعة.

لكشف المكورات السحائية

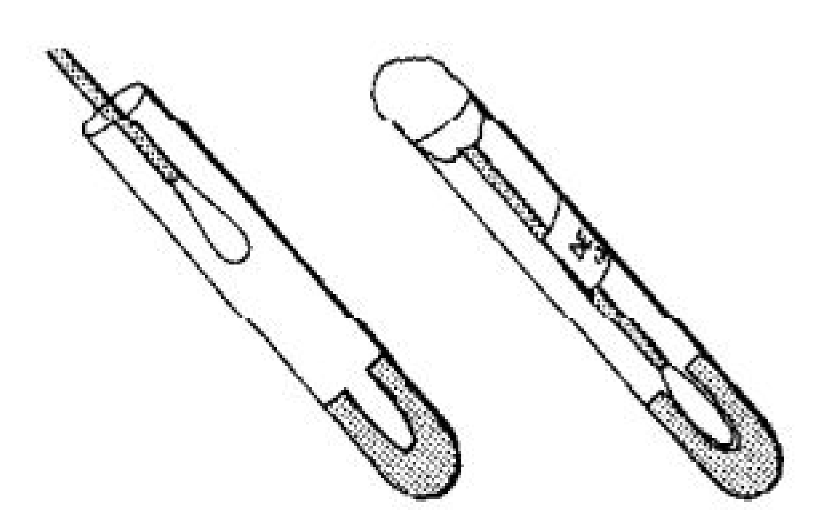
يَنْدُر أن يلزم ذلك، اللهمَّ إلا للمُسوحات الوبائية المُوَجَّهَة لاستعراف حَمَلَة المكورات السحائية، ويُستعمل إذا أمكن مُستنبت للنقل كمستنبت ستيوارت للنقل مُعَدَّلاً (الكاشف رقم 56).

تُفْرَك الماسحة على سطح المستنبت من أحد جانبي القارورة إلى الجانب الآخر بدءاً من القاع (الشكل 21.5)، وتُرْسَل في نفس اليوم.

زمن الحفظ الأقصى: 3 أيام.



الشكل 20.5. إرسال نماذج الحلق في المصل المخثر.



الشكل 21.5. إرسال نماذج الحلق في وسط ستيوارت للنقل.

5.5 فحص النماذج البولية التناسلية لتحري داء السيلان

1.5.5 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- قارورة سعة 100مل
- ممص باستور
- قطن
- وسط نقل Amies (الكاشف رقم 9).

2.5.5 الطريقة

أخذ النماذج

من المرضى الذكور

1. يؤخذ النموذج إذا أمكن في الصباح الباكر قبل أن يبول المريض.



الشكل 22.5. نقل النماذج البولية التناسلية إلى وسط أميز Amies للنقل.

2. يُنَظَّف ما حول فتحة الإحليل بالمحلول الملحي المعقم.

3. يضغط ضغطاً خفيفاً على القضيب بحيث تظهر من الصِّمَاخ قطرة من القيح، وإذا لم يظهر قيح يَدَلَّك الإحليل بلطف من الأعلى باتجاه الأسفل.

4. تؤخذ عينة القيح باستعمال ماسِحَة قطنية معقمة على عود (الفقرة 1.4.5)، ثم تُغْرَز الماسحة في قارورة صغيرة تحتوي على مستنبت أميز للنقل ويُقطع العود للسماح بإغلاق الغطاء بشكل محكم (الشكل 22.5).

5. تُستعمل ماسحة أخرى، لأخذ قطرة من القيح لملون غرام (الفقرة 1.3.5)

أخذ النماذج من المرضى الإناث

ينبغـي أن يؤخـذ النموذج من قبل طبيب أو ممرضـة اختصاصـية من قناة عنق الرحم، وفي حالات داء السـيلان المزمن يجب أن يؤخذ النموذج قُبَيْل أو بُعَيْد الحَيْض مباشرةً.

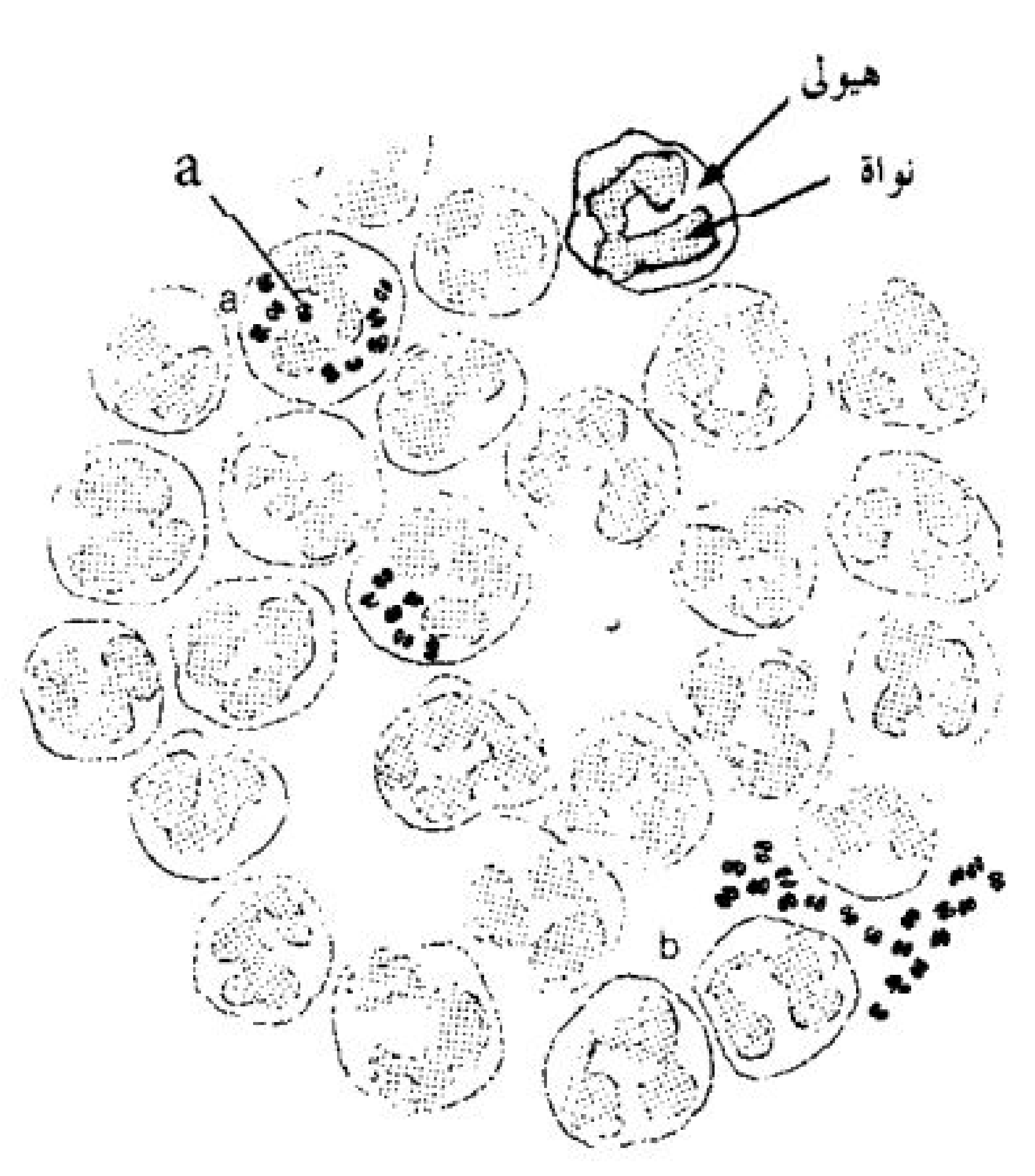
تحضير الشرائح

تُحَضَّر لطاخة مـن كل نموذج، وتُترك لتجف في الهواء ثم تُلَوَّن فوراً بملون غرام (الفقرة 1.3.5).

3.5.5 الفحص المجهري

إن للفحص المباشر قيمة كبيرة في تشـخيص داء السـيلان في الذكور ولكنه أقل شـأناً بكثير في الإناث، ولذلك يكون الزرع ضرورياً لاستفراد المكورات البنية وتعيين هُوِيَّتها في النماذج المأخوذة من الإناث.

تُفحص الشريحة باستعمال الشـيئية الغاطسة 100×، ويجب أن تولى أطراف اللطاخـة وحوافيها اهتماماً خاصـاً حيث تكون العناصر منتشرة بشـكل أرق وبذلك تكون أسهل رؤيةً ويكون الملون أقل تركيزاً.



الشكل 23.5. المكورات البنية والخلايا القيحية:
a: مكورات بنية داخل الخلايا؛
b: مكورات بنية خارج الخلايا.

الخلايا القيحية

للخلايا القيحية نواة وردية زاهية وهيولى عديمة اللون، ويمكن أن تظهر النواة مُتَنَكِّسَةً.

المكورات البنية

تظهر المكورات البنية كمكورات مزدوجة سلبية الغرام (الشكل 23.5 a)، وتبدو المكورات بيضوية بشكل الكلية أو حبات البن. المكورات المزدوجة سلبية الغرام خارج الخلايا (الشكل 23.5 b) يجب أن تسجل.

يسجل :

- وجود مكورات مزدوجة سلبية الغرام داخل الخلايا
- وجود مكورات مزدوجة سلبية الغرام خارج الخلايا
- عدم وجود مكورات مزدوجة سلبية الغرام .

جراثيم أخرى تسبب عدوى لدى المرضى الذكور

يمكن أن تُرى أعداد من الجراثيم التالية أحياناً في لطاخات القيح الإحليلي:

- مكورات إيجابية الغرام (كالعنقوديات)؛
- عصيات إيجابية الغرام (كعصيات الخُناق)؛
- عصيات سلبية الغرام (كالقولونيات).

وهذه الأحياء موصوفة في الفقرة 1.3.5.

جراثيم أخرى تسبب عدوى لدى المرضى الإناث

كل أنواع الجراثيم موجودةٌ في اللطاخات ولا سيما:

عصيات إيجابية الغرام؛

مكورات سلبية الغرام (رَمَّامَة).

4.5.5 إرسال النماذج للزرع [1]

باستعمال مستنبت ستيوارت Stuart للنقل

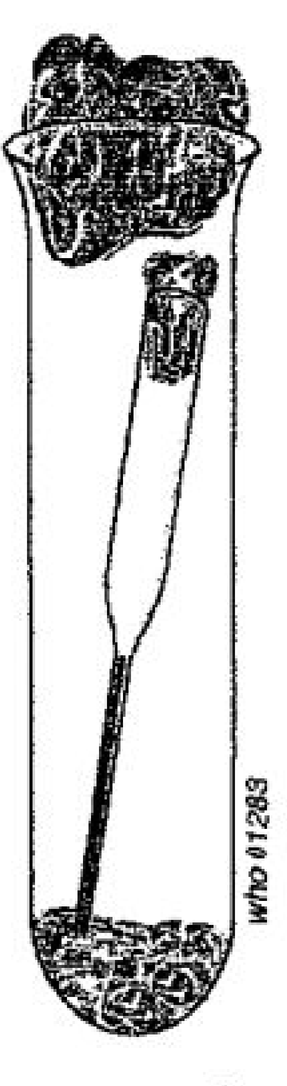
إن إرسال النموذج في مستنبت ستيوارت للنقل (الكاشف رقم 56) هو الطريقة الأفضل إذا أمكن الحصول على المسبب من خبر مخصص. وهو يُزَوَّد عادةً في قوارير مُبطَّحة سعتها 30 مل محتوية على 8 مل من المستنبت الصلب (على طول جانب واحد للقارورة) وتكون مملوءة بمزيج من الهواء (90%) وثنائي أكسيد الكربون (10%)؛ ويمكن أيضاً استعمال قوارير مُدَوَّرَة. ولا يجوز أن تُفْتَح القارورة إلا أقل مدة ممكنة وذلك لتجنب هروب الغاز منها.

الطريقة

1. توضع قارورة المستنبت بوضع قائم. يؤخذ نموذج القيح على ماسحة كما وصف في الفقرة 2.5.5، ثم يُفَكّ غطاء القارورة المُلَوْلَب.
2. تُمسك القارورة قائمةً ما أمكن (لمنع هروب الغاز)، يؤخذ نموذج من القيح ويفرك على كامل سطح الوسط الصلب من أحد الجوانب إلى الجانب الآخر بدءاً من القاع (انظر: الشكل 22.5).
3. يُعاد غطاء القارورة على الفور. تُرسل القارورة (في حرارة المُحيط) في الحال.

زمن الحفظ الأقصى: 3 أيام، ولكن كلما كان التأخير أقل كان أفضل.

إن مستنبت النقل هذا ملائم أيضاً للمكورات السحائية.



الشكل 24.5. إرسال النماذج البولية التناسلية في مِمص باستور.

استعمال مِمص باستور

الطريقة

1. يؤخذ نموذج القيح على ماسحة قطنية معقمة كما وُصِف في الفقرة 2.5.5.
2. يُسحب نموذج القيح في مِمص باستور معقم مسدود بالقطن.
3. يوضع المِمص في أنبوب اختبار معقم مُوَسَّد ومَسْدود بالقطن كما يبدو في الشكل 24.5.

زمن الحفظ الأقصى: 6 ساعات (في حرارة المحيط).

6.5 فحص النماذج التناسلية لتحري الزُّهْرِيّ (الإفرنجي، السفلس)

الزهري هو مرض ينتقل جنسياً وتسببه اللَّوْلَبِيَّة الشاحِبَة Treponema pallidum ويحدث بثلاثة أطوار سريرية.

1. انظر أيضاً الفقرة 1.7.3

يتميز الطور الأول بقَرْحَة تناسلية عديمة الألم (القَرْح الزهري) تترافق أحياناً بضخامة العقد اللمفية في بعض نواحي الجسم، ويلتئم القرح عفوياً حتى دون معالجة.

يترقى المرض في بعض المرضى إلى الطور الثاني.

يؤدي الطور الثاني إلى:

- طَفَح جلدي؛
- قرحات فموية؛
- ثآليل تناسلية؛
- ضخامة متعممة للعقد اللمفية.

الطور الثالث نادر جداً ويتميز بإصابة الجهاز العصبي المركزي والمرض القلبي.

يمكن أن ينتقل الزهري الثانوي أو الثالثي إلى الجنين في الرحم (الزهري الخِلْقِيّ).

الداء العُلَّيْقِيّ yaws

ينجم الداء العليقي عن لولبية غير منقولة جنسياً (اللولبية الرقيقة) ويحدث في الأقاليم المدارية الرطبة، ويتميز بأورام حُلَيْمية حبيبية على الجلد.

اللولبية الشاحبة واللولبية الرقيقة هما مُلْتَويتان مُرْهَفَتان تتميزان بالتواءات مُلْتَزَّة (متراصة) وبقياس 6–12 × 0.2 مكم، ولا يمكن التمييز بينهما تحت المجهر.

من الضروري مُعايَنَة العينات المشتبه بكونها مصابة بالعدوى بالملتويات وذلك بالفحص المجهري بالساحة المظلمة إذ أنها لا تتلون بسهولة كي ترى بالضوء النافذ.

1.6.5 المواد والكواشف

- مجهر مزود بساحة مظلمة
- شرائح زجاجية
- ساترات
- قفازات
- شاش
- واخزة أو مشرط عقيم
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)

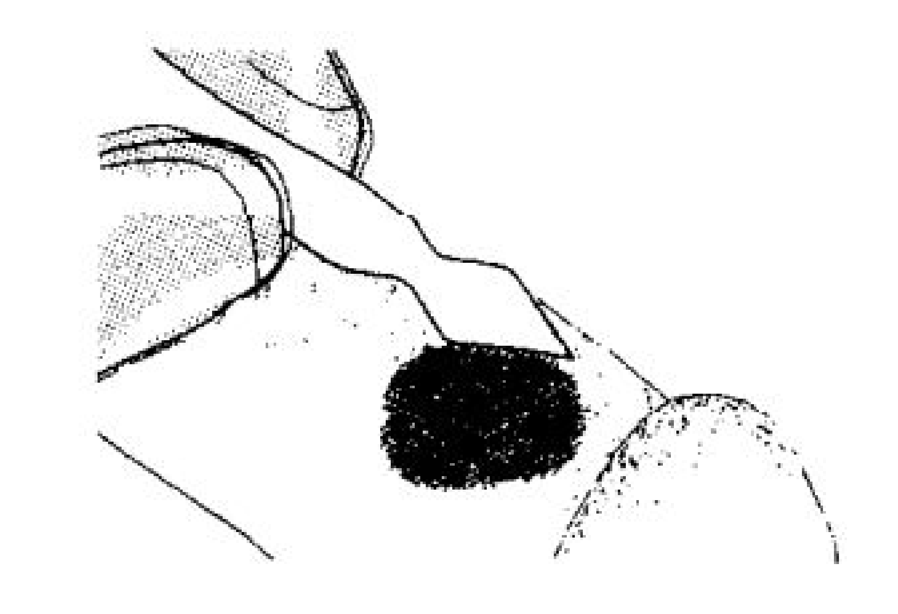
2.6.5 الطريقة

جمع النماذج

ملاحظة هامة:

- تُلْبَس قفازات واقية لدى تطبيق هذه الإجراءات.
- يجب أن تكون منطقة القرح خالية من أي مرهم قبل محاولة أخذ النماذج.

1. يُنظف القرح بالشاش المبلل بالمحلول الملحي الإسوي التوتر (الكاشف رقم 41).
2. إذا لم يكن هناك سائل مصلي واضح تُكْشَط حافة القرحة بلطف بواسطة واخزة معقمة أو الحافة المسطحة لنَصْل مشرط (الشكل 25.5)، على أن لا يؤدي ذلك إلى إدماء المنطقة.
3. تُضغط القرحة بلطف برفادة من الشاش.
4. تؤخذ قطرة من النَّضْحَة المصلية باستعمال ساترة وتُقْلَب على الفور فوق شريحة.



الشكل 25.5. أخذ نموذج قرح.

3.6.5 الفحص المجهري

مع توفر خبرة بالفحص المجهري بالساحة المظلمة يمكن رؤية اللولبيات وتمييزها من اللولبيات الرَّمَّامَة بحجمها، وحركتها المميزة، وعدد التواءاتها النموذجي (الشكل 26.5).



الشكل 26.5. اللولبيات.

7.5 فحص نماذج المَنِيّ

يُستقصى المني لدى المرضى لاستبعاد العُقْم، ويتم ذلك بتقييم الخصائص الوظيفية للنِطاف في السائل المنوي.

1.7.5 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح زجاجية
- ساترات
- ممص ساهلي sahli الدم
- اسطوانة مدرجة سعة 10 مل
- ورقة مشعرة للباهاء
- حجيرة العد المحسنة لنوباور Neubauer
- بيكربونات الصوديوم
- فينول أو فورمالين (فورمالدهيد 37%)
- ماء مقطر
- هلام البترول

قبل جمع نموذج المني، يحضر سائل مخفف للمني كالتالي:

- بيكربونات الصوديوم 5 غ
- الفينول أو الفورمالين 1 مل
- ماء مقطر، إلى 100 مل

2.7.5 الطريقة

جمع النماذج

يؤخذ المنـي من قبل المريض في قارورة نظيفة جافة ويُجلب إلى المختبر بأسرع ما يمكن بعد جمعه والأفضل خلال 30 دقيقة؛ إلا أنه لا يمكن أن يُفحص فوراً إذ أن المني هو سائل مرتفع اللزوجة ويجب أن "يميَّع"، ويحدث هذا خلال 15–30 دقيقة حيث يجب أن يفحص بأسرع ما يمكن بعد حدوث التَّميُّع.

تحضير الشرائح

بعد حدوث التميع تُهيأ لطاخة رقيقة من المني على شريحة (مماثلة للطاخة الدم)، وتُترك لتجف في الهواء ثم تُسخن بلطف كبير لكي تتثبت. يُزال المخاط (الذي يتداخل بالتلوين) بغسل الشريحة بسائل تخفيف المني (انظر أعلاه)، ثم تغسل الشريحة بلطف بالماء المقطر المدروء.

يُلَوَّن المني بملون ليشمان أو بملون غيمزا (الفقرة 3.10.9، ص 303–304).

3.7.5 الفحص المجهري

الحجم

يُقاس الحجم في أسطوانة مدرجة صغيرة؛ يختلف المقدار من بضع قطرات فقط إلى 10 مل، والحجم السوي 4–5 مل، ويُعتبر حجم أقل من 1.5 مل شاذاً.

اللزوجة

يجب أن يميع المني المَدْفوق الطازج خلال 30 دقيقة بشكل تام، ويمكن أن يتداخل غياب التميع مع تَحَرُّك النطاف والإخصاب.

اللون

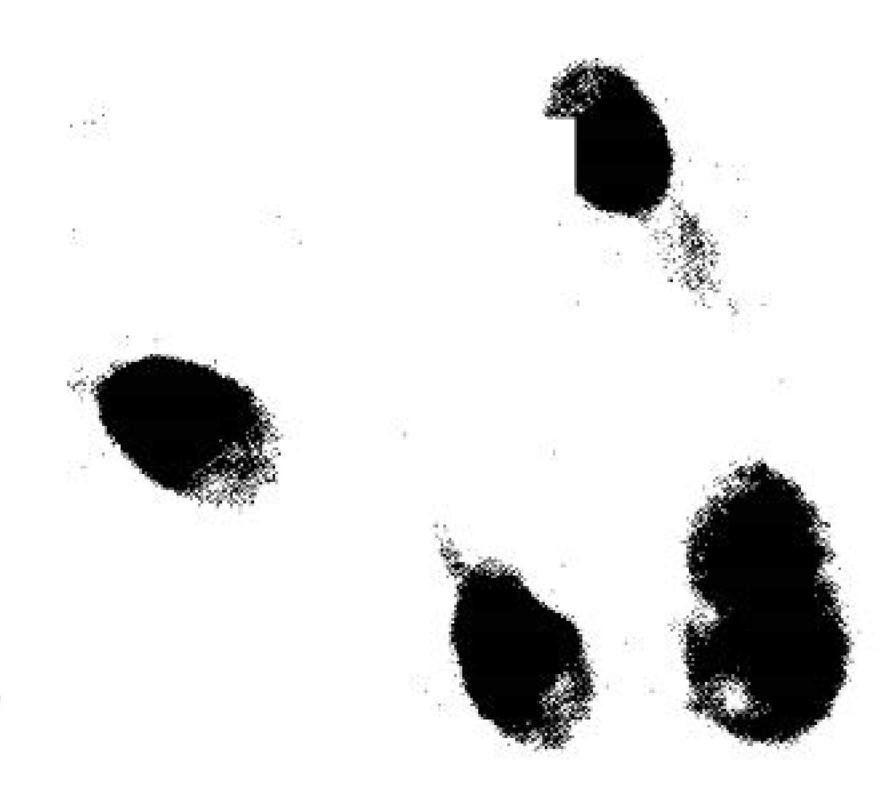
يكون المني في الحالة السوية بلون رمادي مُعْتِم، ويمكن أن يبدو بلون أُصفر قليلاً بعد فترة طويلة من الامتناع عن النشاط الجنسي.

الباهاء pH

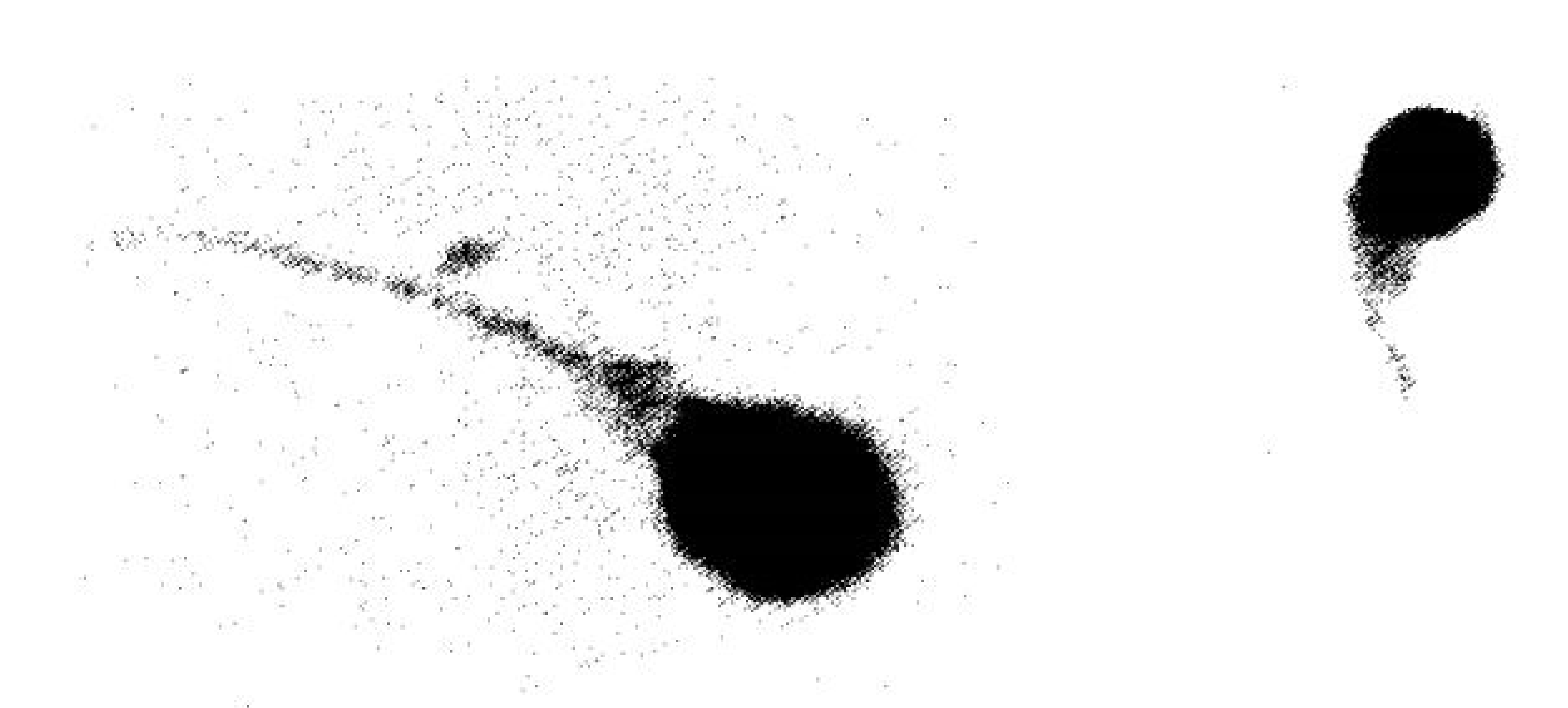
يُدوَّن الباهاء pH عادةً ولو أنه قليل الأهمية، ويكون المني قلوياً دوماً بوسطي للباهاء pH حوالي 7.6 (المجال 7.2–8.9).

4.7.5 الفحص المجهري

تكون النطاف السوية بطول 50–70 مكم وذات رأس بيضوي كبير وعنق صغير وذيل نحيف طويل، ويَشْغُل الذيل نحو 90% من الطول الإجمالي (الشكل 27.5)، ويقيس الرأس 3–6 مكم × 2–3 مكم.



الشكل 27.5. النطاف الطبيعية.



الشكل 28.5. نطفة ذات رأس شاذ الشكل. الشكل 29.5. نطفة ذات رأس شاذ صغير.



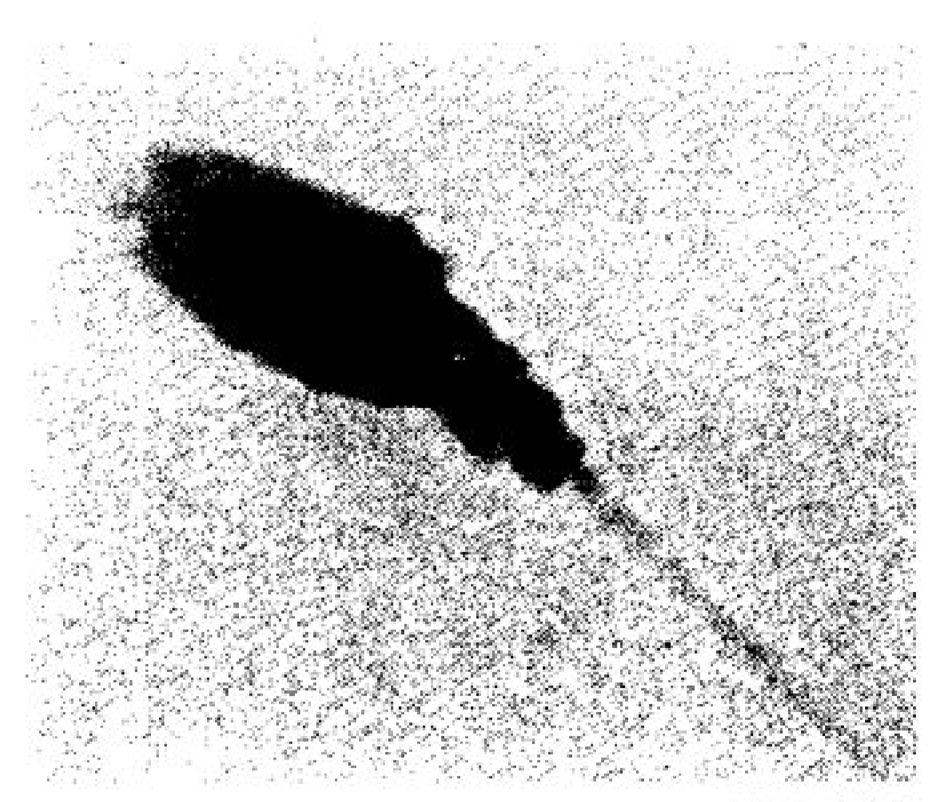
الشكل 30.5. نطفة ذات رأس مضاعف.

تتضمن الشذوذات الشكلية (المورفولوجية) التي يجب البحث عنها:

- الرؤوس ذات الشكل الشاذ (الشكل 28.5)؛
- الرؤوس ذات الحجم الشاذ (عملاقة أو صغيرة جداً) (الشكل 29.5)؛
- الرؤوس المزدوجة (الشكل 30.5)؛



الشكل 31.5. نطفة ذات ذيل ملتوٍ.





الشكل 32.5. نطفة ذات عنق منفوخ.



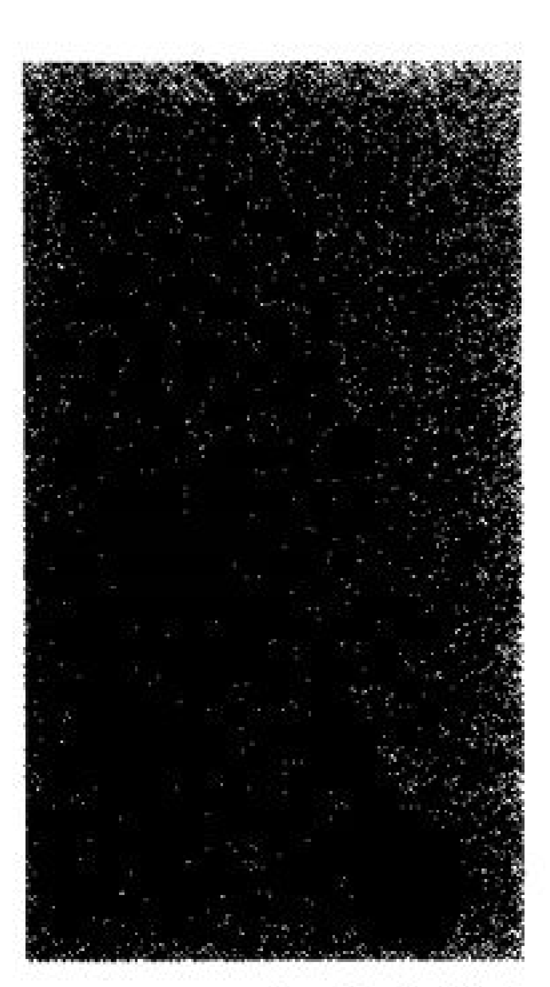
– الذيل الملتف (الشكل 31.5)؛
– غياب العنق أو العنق ذو الشعبتين أو المنتفخ (القسم الأوسط) (الشكل 32.5)؛
– الذيل المزدوج أو الرَّديمِيّ (ناقص التطور) أو الغائب (الشكل 33.5)؛

يجب ألا يوجد في اللطاخة السوية أكثر من 20% من الأشكال الشاذة.

خلال فحص المني يُدَوَّن وجود أي خلايا أخرى مثل:

– الكريات الحمر؛
– الكريات البيض المتعددة النوى؛
– الخلايا الظهارية؛
– الخلايا غير الناضجة من الخصية، الخ ...

يمكن أيضاً مشاهدة بلورات مختلفة، ويجب أن يُدَوَّن وجودها.



الشكل 33.5. نطفة ذات ذيل مضاعف أو رديمي.

التَّحرُّك

للتحقق من التحرك توضع قطرة من المني على شريحة ثم تُغطى القطرة بساترة وتُؤطَّر الحافة بهُلام البترول (الوَذَلين) لمنع التبخر. تُفحص تحت الشيئة 40× للمجهر.

تُقَدَّر بشكل تقريبي نسبة أشكال النطاف المتحركة إلى غير المتحركة في عدة ساحات مجهرية مختلفة؛ وفي الحالة السوية تكون حوالي 80% من النطاف متحركة بنشاط وحوالي 20% مُتَلَكِّئةً (بطيئة الحركة) أو غير متحركة إطلاقاً. تُراقب الشريحة بعد 3 ساعات و6 ساعات وكذلك -إذا كان ملائماً- بعد 12 ساعة و24 ساعة، حيث يجب أن يكون نقص التحرك قليلاً أو معدوماً خلال 3 ساعات، إلا أنه بعد ذلك يحدث فقد متزايد للتحرك ليكتمل هذا الفقد في حرارة الغرفة بعد 12 ساعة. يمكن أن يكون نقص تحرك النطاف عاملاً في العُقْم.

تعداد النطاف

1. بعد حدوث التميع يُهز النموذج بلطف لكي يمتزج.
2. يُستعمل ممص ساهلي للدم لسحب المني إلى العلامة 0.5، ثم يُسحب فيه سائل تَخفيف المني إلى العلامة 11 ويوضع الممص على دَوَّارَة لمزج المحتويات.

3. تُملأ حُجَيْرة عَدّ نوباور المُحَسَّنَة (الشكل 40.9)، وتُترك النطاف لتستقر ثم تُعَدّ في مربعات الزوايا الأربع كما هو الحال بالنسبة لعَدّ كريات الدم البيضاء (الفقرة 3.6.9). إن صيغة الحساب مماثلة لتلك المستعملة لكريات الدم البيضاء (الفقرة 4.4.9) باستثناء أن عد النطاف يكون في كل 1 مل بدلاً من 1مم3 وبذلك يلزم عامل ضرب إضافي 1000.

عدد النطاف/مل = (ع×10×20×1000) ÷ 4

حيث ع = عدد النطاف المعدودة.

يتراوح تعداد النطاف السوي بين 60 و 150 مليون/مل (100–500 مليون/مل وفقاً لبعض المصادر)، وإذا كان تعداد النطاف لدى المريض أقل من 60 مليون/مل فيعتبر منخفضاً مع أن المريض قد يكون مازال خَصْباً.

8.5 فحص النَجيج (المفرزات القيحية) المهبلي

يُفحص النجيج discharge المهبلي بالمجهر لاستبعاد العدوى بالمكورات البنية والمُبْيَضَّة البَيْضاء والمُشَعَّرة المهبلية التي تسبب الداء المهبلي الجرنومي وداء المبيضات الفرجي المهبلي وداء المشعرات على التوالي.

1.8.5 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)

2.8.5 الطريقة

أخذ النماذج

يجب أخذ النموذج من قبل طبيب أو ممرضة مختصة

تحضير الشرائح

1. تُهيأ لطاخة من النجيج (المفرزات القيحية) على شريحة وتُترك لتجف في الهواء، ثم تُلون اللطاخة بملون غرام (الفقرة 1.3.5) وتُفحص بحثاً عن المبيضة البيضاء.
2. تؤخذ عينة صغيرة من النجيج (المفرزات القيحية) على شريحة ثانية وتُضاف قطرة من المحلول الملحي وتغطى بساترة، ثم يُبحث عن المكورات البنية وأتاريف المشعرة المهبلية في هذا المحضر.

3.8.5 الفحص المجهري

تُفحص الشريحة الملونة بغرام باستعمال الشيئية 40× والشيئية الغاطسة 100×. تبدو المبيضة البيضاء كخمائر yeasts كبيرة إيجابية الغرام كثيراً ما تكون متبرعمة أو تترافق بأُفطورات قصيرة الطول (الشكل 13.5).

يُفحص محضر المحلول الملحي بأسرع ما يمكن باستعمال الشيئيتين 10× و40×، ويُستعمل المجهر مع إغلاق حجاب قزحية المكثفة لإعطاء تباين جيد مع تجنب جفاف النموذج. تكون المكورات البنية سلبية الغرام وتبدو كنقاط صغيرة (الشكل 12.5). تبدو المشعرة المهبلية كسوطية متحركة بشدة تقيس 8–20 مكم، وذات غشاء متماوج ونواة بارزة.

9.5 فحص نماذج البراز المائي

يُستعمل الفحص المجهري بالساحة المظلمة لاستعراف ضَمَّة الكوليرا وأنواع العَطِيفَة Campylobacter في نماذج البراز المائي.

1.9.5 المواد والكواشف

- مجهر بساحة مظلمة
- شرائح مجهرية
- ساترات
- غانات (عروات) سلكية
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)

2.9.5 الطريقة

1. يُعلَّق 0.2 غ من البراز في 5 مل من المحلول الملحي، وتُترك الجسيمات الكبيرة لتتثفل.
2. تُحضر لطاخة رقيقة جداً على شريحة مجهرية باستخدام الغانة (العروة) السلكية (المعقمة بالتلهيب). ويجب الاعتناء برفع الجسيمات الكبيرة.
3. تُغطى بساترة، وتوضع الشريحة على رف المجهر.
4. يُفتح حجاب القزحية كلياً وتوضع وصلة الساحة المظلمة في موضعها.

3.9.5 الفحص المجهري

تُستعمل الشيئية 10× للمُبَاءَرَة، فتظهر الخلفية سوداء وتظهر كل الأشياء المعلقة في المحلول الملحي ساطعةً.

تُستعمل الشيئية 40× للبحث عن الجراثيم ذات التَّحَرُّك والأشكال المميزة (انظر أدناه).

تُرى ضمة الكوليرا كعصيات متحركة يمكن أن تكون قصيرة منحنية أو مستقيمة أو مفتولة (الشكل 34.5).

أنواع العَطِيفَة هي عصيات حلزونية سلبية الغرام تدور بسرعة حول محور مركزي.

4.9.5 إرسال النماذج للزرع(1)

كثيراً ما يلزم إرسال نماذج البراز إلى مختبر للجرثوميات للزرع:

- لكشف ضمات الكوليرا؛
- لكشف جراثيم أخرى تسبب الزُّحار (أنواع السلمونيلة، الشيغيلة، الخ...).

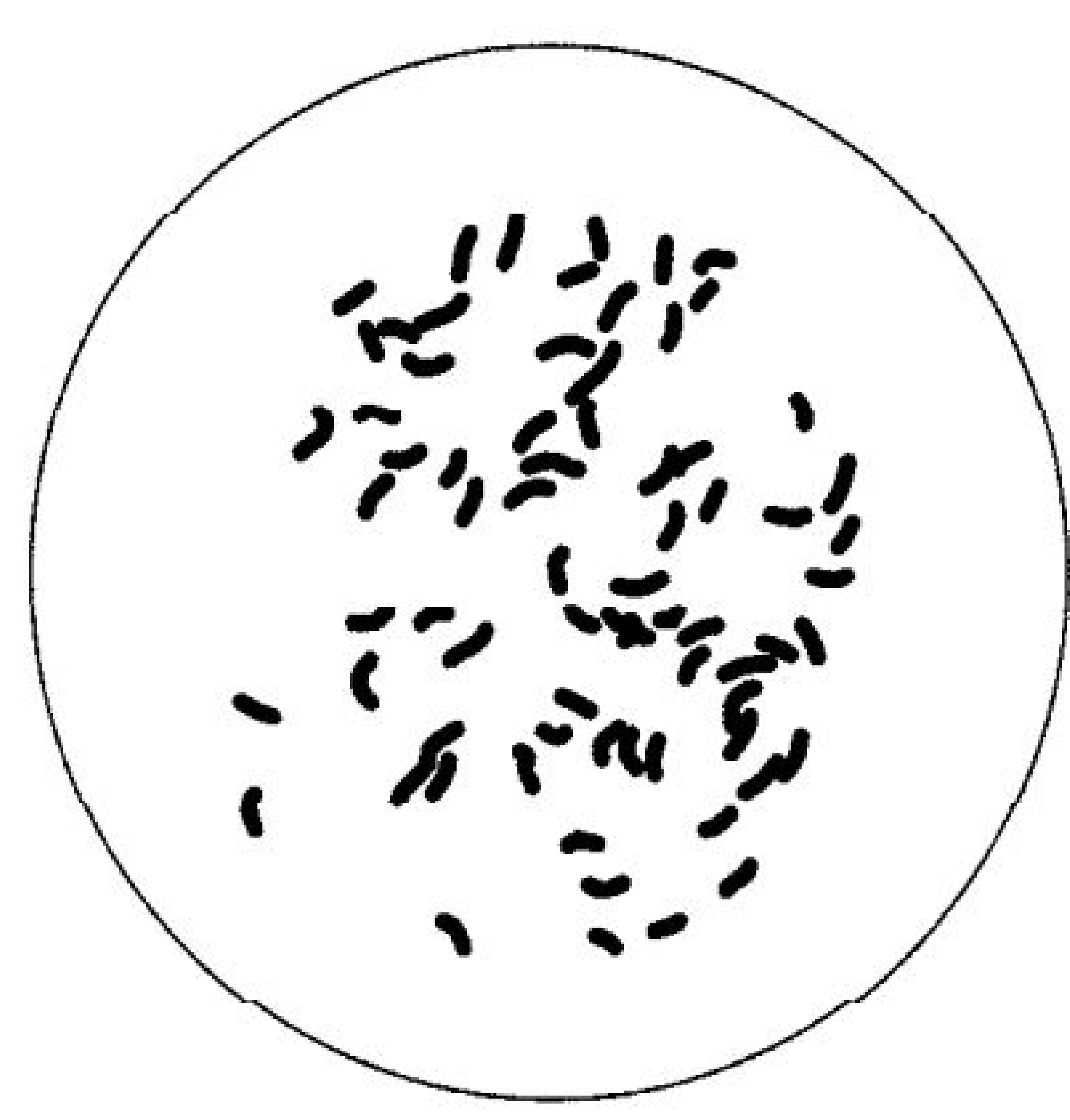
استعمال مستنبت كاري–بلير Cary–Blair

يَحْفَظ مستنبت كاري–بلير للنقل كثيراً من أنواع الجراثيم المعوية (ضمات الكوليرا، الضمات الأخرى، السلمونيلة، الشيغيلة، الخ...) حتى 4 أسابيع؛ ويمكن أن يُخْتَزَن المستنبت غير المزروع في قارورة مختومة في حرارة الغرفة مدة 8–12 أسبوعاً.

1. تُغمس ماسحة قطنية معقمة في نموذج البراز (الشكل 35.5).
2. في الأطفال أو المرضى الآخرين الذين لا يستطيعون إعطاء نموذج البراز تؤخذ مسحة من المستقيم: تُرَطَّب الماسِحَة بمحلول كلوريد الصوديم وتُدْخَل في المستقيم وتُقَلَّب عدة مرات بحركة دائرية (الشكل 36.5).

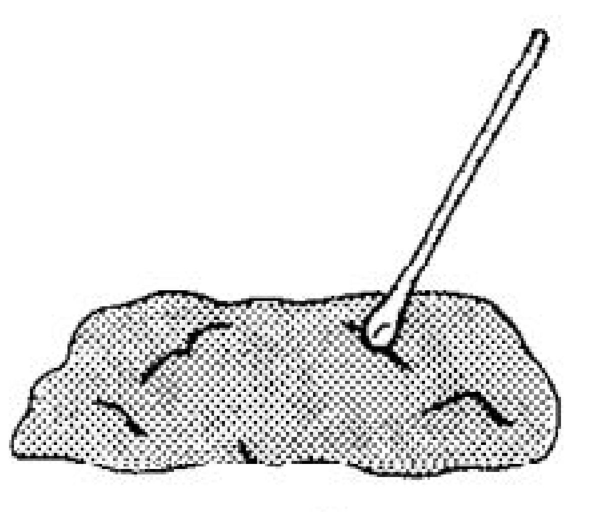
---

1. انظر أيضاً الفقرة 1.7.3



الشكل 34.5. ضمة الكوليرا.

3. توضع الماسحة في قارورة تحتوي على مستنبت كاري–بلير (مملوءة إلى ثلاثة أرباعها) وتُرْسَل إلى مختبر الجرثوميات، وإذا لم يكن بالإمكان إرسال الماسحة فوراً تُختَزَن في حرارة الغرفة.



الشكل 35.5. أخذ نموذج البراز المائي.

ملاحظة هامة:

- لا يجوز اختزان الماسحة في الحاضِنَة.
- لا يجوز اختزان الماسحة في الثلاجة.

استعمال المحلول الملحي الغليسيرولي المَدْروء

عندما تُرسل النماذج لزرع أحياء معوية أخرى غير ضمات الكوليرا، ولا يكون مستنبت كاري–بلير للنقل متوافراً، يمكن استعمال المحلول الملحي الغليسيرولي المدروء (الكاشف رقم 14).

ملاحظة: إذا كان المحلول الملحي الغليسيرولي المدروء قد تَبَدَّل لونُه من الوردي إلى الأصفر، يُرْمَى ويُحَضَّر محلول طازج.



الشكل 36.5. أخذ نموذج البراز من رضيع.

1. يوصى باستعمال قارورة صغيرة سعتها 7.5 مل مُملأ بالمحلول الملحي الغليسيرولي المدروء إلى مسافة تبعد 2 سم عن الفوهة.
2. توضع المسحة البرازية أو المستقيمية في القارورة وتُرسل مباشرة إلى مختبر الجرثوميات.

10.5 فحص الرُّشافات والنضحات والانصبابات

تؤخذ الرُّشافات aspirates والنَّضْحات exudates والانْصِبابات effusions بغَرْز إبرة معقمة في الجوف الملائم الأمر الذي لا يمكن أن يقوم به سوى طبيب خبير نظراً لوجود خطر إدخال العدوى. وتشتمل الأجواف التي يمكن أخذ سوائل الانصبابات منها على ما يلي:

- الجَنْبي (الصدر)؛
- الصِّفاقِي (البطني)؛
- التاموري؛
- المفصل الزّليلي؛
- الجراب bursa.

تُفحص رُشافات الدُّبْل bubo لمصري اليَرْسَنِيَّة الطاعونية التي تسبب الطاعون الدبلي. يُنقل الجرثوم من مواضع الحقن إلى العقد اللمفية في الإبط والأُرْبيّة والعنق حيث يسبب تَوَرُّمات أو أدْبال مُوَضَّعَة.

1.10.5 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- منبذة
- أنابيب تبييذ
- أوعية للنماذج (الفقرة 7.3)
- غانة (عروة) سلكية
- ميثانول 70%
- كواشف لـ:
  - ملون غمزا (الفقرة 3.10.9)
  - ملون غرام (الفقرة 1.3.5)
  - ملون ويسون (الفقرة 4.3.5)
  - ملون تسيل ـ نلسن (الفقرة 3.3.5)

2.10.5 الطريقة

أخذ النماذج

سائل الجوف المَرْشوف

يؤخذ سائل الجوف المَرْشوف في أوانٍ نظيفة جافة معقمة.

يُسجل مظهر السائل: يكون سائل الجوف عادةً بلون تبني (أصفر) ولكن يمكن أن يبدو عكراً أو ملوناً بالدم.

تحضير الشرائح

سائل الجوف المَرْشوف

1. تُستعمل طريقة طاهِرَة (مُعَقّمَة) لنقل 10 مل من السائل إلى أنبوب تنبيذ ويُنَبَّذ بسرعة معتدلة (قوة نابذة 2000 جاذبية) لعدة دقائق.

2. يُرفع الطافي ويُعاد تعليق الراسب ثم تُستعمل غانة (عروة) زرع لتحضير ثلاث لطاخات وبحيث يُفرش السائل بشكل طبقة رقيقة فوق كل شريحة (الفقرة 3.2.5).
3. تُترك اللطاخات لتجف في الهواء وتُثبت بالميثانول.
4. تُلوّن الشرائح بـ:
   – ملون غرام (الفقرة 1.3.5)؛
   – ملون تسيل ـ نلسن (الفقرة 3.3.5)؛
   – ملون غيمزا (الفقرة 3.10.9).

رُشافات الدُّبْل

1. تُحضر لطاخة من السائل المرشوف كما وُصف في الفقرة 3.2.5.
2. تُثبت اللطاخة في الميثانول لمدة دقيقتين وتُلوّن بملون ويسون (الفقرة 4.3.5).

3.10.5 الفحص المجهري

تُفحص كل شريحة باستعمال الشيئية 40× والشيئية الغاطسة 100×.

يُبحث عن أي جراثيم موجودة على الشريحة الملونة بملون غرام.

يُبحث عن العصيات الصامدة للحمض (المُتَفَطِّرات) على الشريحة الملونة بملون تسيل ـ نلسن

عند فحص الشريحة الملونة بملون غيمزا تُعَيَّن هوية النمط السائد للكريات الدموية الموجودة: الكريات البيض المتعددة النوى أو اللمفاويات، أو الخلايا المُتَوَسِّطِيَّة (الميزوتليالية، من بطانة الجوف)، وأي خلايا غير نموذجية يمكن أن توحي بالخلايا السرطانية.

إذا لم تكن الخلايا الموجودة قليلة أو إذا كان السائل ملوناً بالدم، يُرسل إلى مختبر الباكتريولوجيا للزرع.

رُشافات الدبل

تُفحص الشريحة أولاً باستعمال الشيئية 40× للتحقق من توزع المادة ثم تُستعمل الشيئية الغاطسة 100× للبحث عن اليرسنية الطاعونية.

تُرى اليرسنية الطاعونية كأحياء ثنائية القطب تتلون بالأزرق مع نهايات وردية.

11.5 فحص القيح لتحري العصوية الجمرية

العَصَوِيَّة الجَمرِيَّة هي مُمْرِض لأنواع عديدة من الحيوانات، وهي مسؤولة عن الجَمْرَة الخبيثة الجلدية حيث تبدو في شكلها المبكر كنَفْطَة blister على الجلد غالباً ما تُدْعى بَثْرَة pustule خبيثة.

1.11.5 المواد والكواشف

- ثياب واقية
- قفازات
- مجهر
- شرائح مجهرية
- غانات (عروات) سلكية أو مسحات قطن عقيمة (الفقرة 1.4.5)
- أزرق الميثيلين لـ لوفلر (الكاشف رقم 35)
- محلول برمنغنات البوتاسيوم 4% (الكاشف رقم 46)

2.11.5 الطريقة

أخذ النماذج

تحذير: الجمرة الخبيثة هي مرض معدٍ بشدة، ولذلك يجب ارتداء قفازات وثياب واقية عند أخذ النماذج.

تُستعمل غانة (عروة) سلكية للزرع أو ماسحة قطنية لأخذ بضع قطرات من قيح أو سائل البثرات الخبيثة وتُحَضر لطاخة على شريحة للتلوين، وتُترك اللطاخة لتجف في الهواء في مقصورة مأمونة.

تحضير الشرائح

1. تحضر الشريحة من القيح أو السائل كما هو موصوف في الفقرة 3.2.5.
2. تُثَبّت اللطاخة بمحلول برمنغانات البوتاسيوم لمدة 10 دقائق ثم تُلوَّن بزُرْقَة الميثيلين حسب لوفلر (الفقرة 5.3.5).

3.11.5 الفحص المجهري

تُفحص الشريحة أولاً باستخدام الشيئية 40× لتحري توزع المادة، ثم تستخدم الشيئية الغاطسة 100× للبحث عن عصيات الجمرة.

تبدو العصوية الجمرية كعصيات زرقاء كبيرة محاطة بمحفظة بنفسجية زاهية، وتصطف العصيات في سلاسل (الشكل 17.5).

12.5 فحص اللطاخات الجلدية والسَّحائِج الأنفية لتحري المتفطرة الجذامية

الجُذام leprosy أو داء هانْسِن هو عدوى النسيج العصبي المحيطي بجرثوم المُتَفَطِّرَة الجُذامِيَّة. ويمكن أن تكون عصيات الجذام موجودة بأعداد كبيرة في آفات الجذام الورمي (الجذام الكثير العصيات)، وتكون عادةً قليلة العدد أو غائبة في آفات الجذام الدَّرَنِيّ (الجذام القليل العصيات).

يوضع التشخيص بفحص لطاخات فلعات الجلد المأخوذة من مواضع مختلفة على الجسم أو من سحائج أنفية مأخوذة من الوَتيرَة الأنفية، وبعد تثبيت اللطاخات تلون بطريقة تسيل ـ نلسن المُعَدَّلَة.

تؤخذ لطاخات فلعات الجلد عادةً من 6 مواضع يجرى اختيارها من مناطق تمر فيها الأعصاب قرب سطح الجلد.

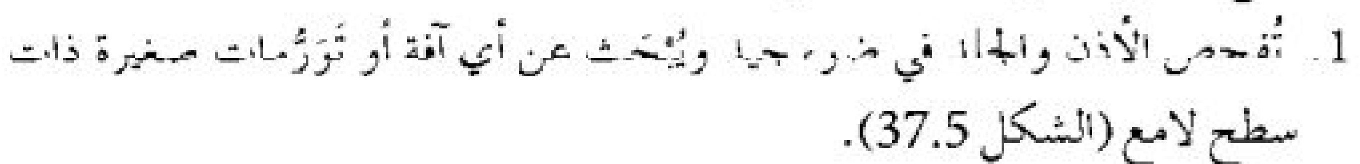
1.12.5 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- مِشْرَط
- مِلْقَط ذو نهايات مدورة من دون أسنان، أو مِلْقَط مِلْقاطِيّ منحن بلا أسنان، أو ملقط الأنسجة
- قلم ماسي
- شاش
- صحائف صغيرة أو قفازات من البلاستيك
- ماسحات قطنية عقيمة (الفقرة 1.4.5)
- مِصْباح كحولي أو مِلْهب بنزن.
- كواشف لملون تسيل ـ نلسن (الفقرة 3.3.5)
- إيثانول 95%.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).

2.12.5 الطريقة

أخذ النماذج

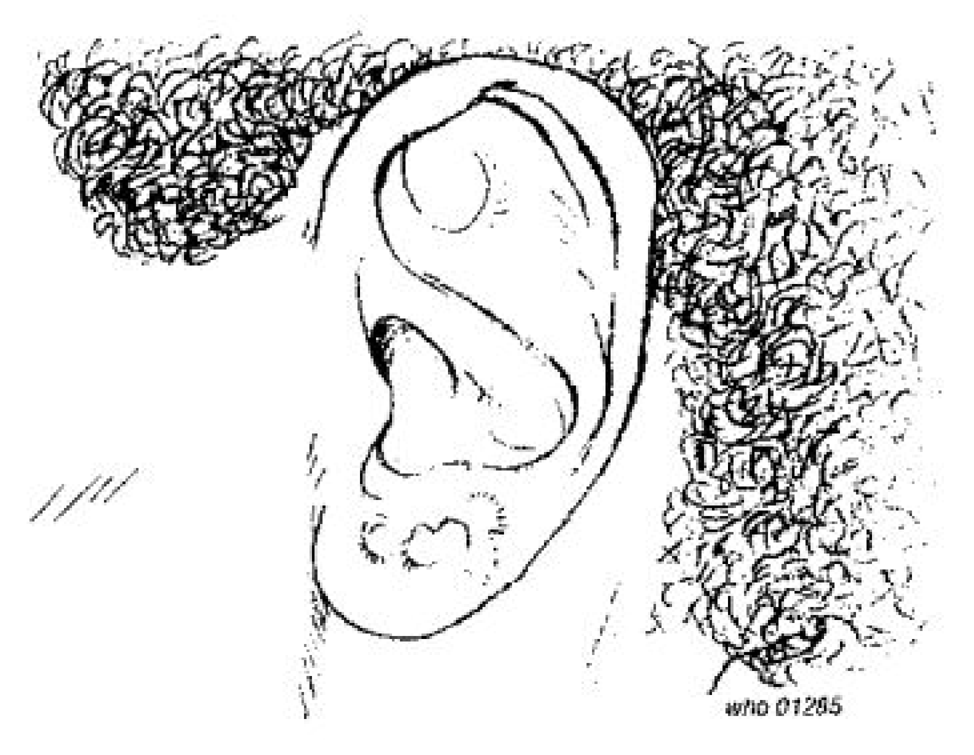
النماذج المأخوذة من آفات الأذن والجلد



1. تُفحص الأذن والجلد في ضوء جيد ويُبحث عن أي آفة أو تورّمات صغيرة ذات سطح لامع (الشكل 37.5).

   تُنتقى من كل أذن الآفة أو العُقَيْدة الأكثر احتقاناً، وإذا لم تُشاهد أي آفة تُستعمل حواف شَحْمَة الأذن.

   تُختار من الآفة الجلدية منطقةٌ واقعة مباشرةً داخل حافة لَطْخَة أو منطقة زائلة التَّصَبُّغ.



الشكل 37.5. آفات الجذام على الأذن.

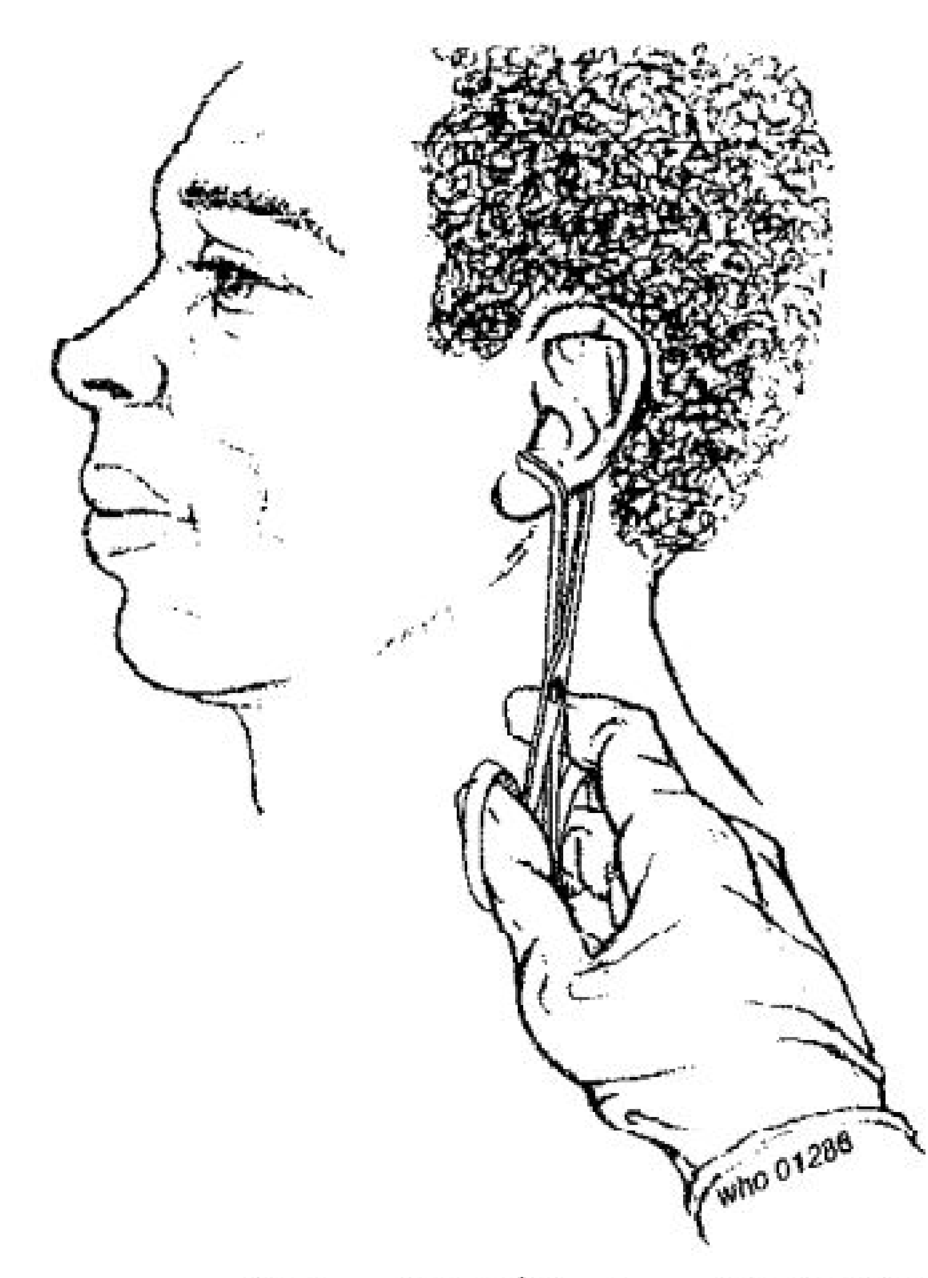
2. تُطَهَّر المنطقة باستعمال قطعة من الشاش مبللة بالإيثانول، ويُلَهَّب المِلْقَط والمِشْرَط.
3. تُعْصَر شَحْمَة الأذن أو المنطقة الجلدية بشدة باستعمال الملقط (الشكل 38.5) إذا توافر، وإلا تُستعمل السبابة والإبهام لإيقاف جريان الدم.
4. يُستعمل المِشرط لعمل شق سطحي على طول وسط الآفة: حوالي 0.5 سم طولاً و 2–3 م عمقاً.

   يُثابَر على العصر بالملقط ويُدار المشرط إلى الجانب المسطح، ثم يُكْشَط قاع الشق بلطف بواسطة رأس النَّصْل (الشكل 39.5)، ويؤخذ السائل النسيجي المصلي ومقدار صغير من المادة الخلوية إنما مع تجنب سحب الدم.

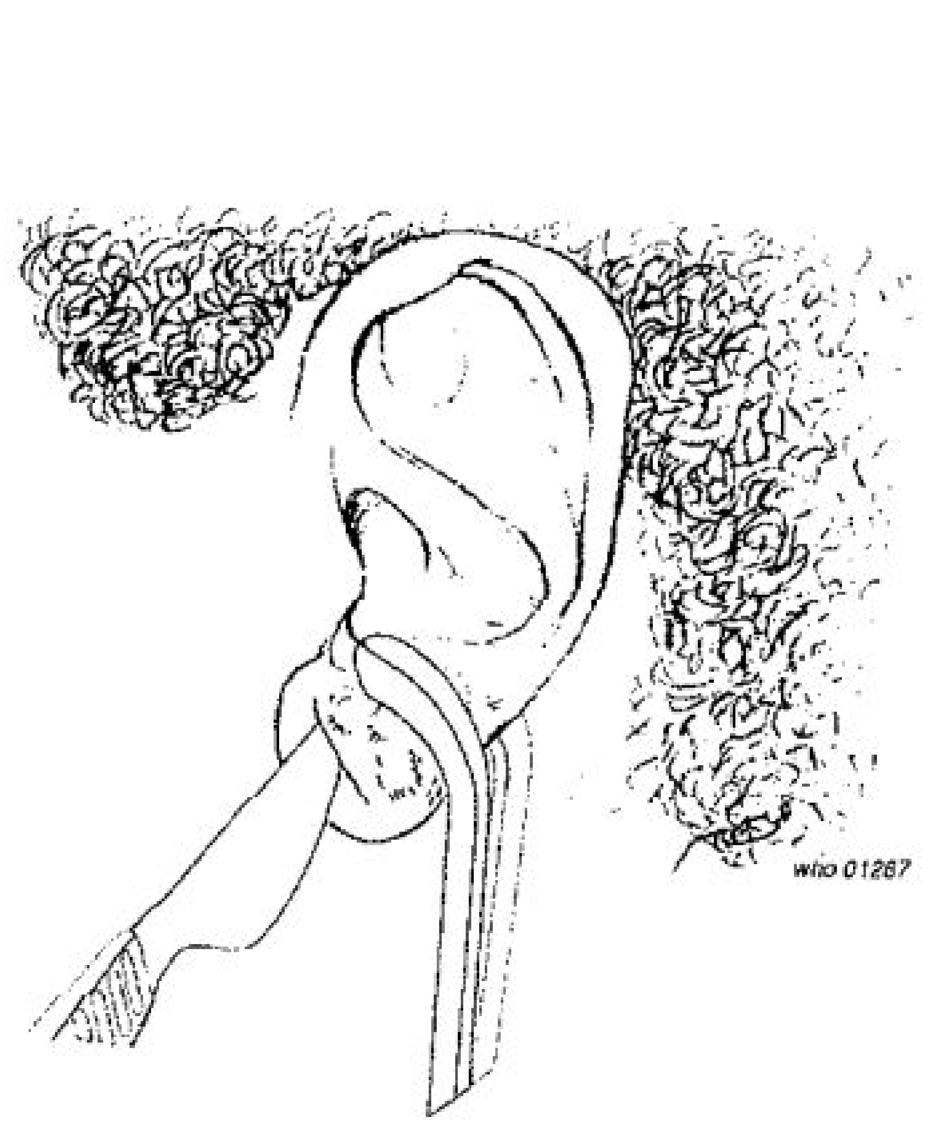
النماذج المأخوذة من الجسم والوجه

1. يُفحص الجسم والوجه من أجل تحري:
   – الآفات المشابهة لتلك الموجودة على الأذن، ولكنها أكبر غالباً (الشكل 40.5).
   – الخطاطات أو اللُّطْخات المُبَسَّطة (البُقَع maculae) أو اللُّوَيْحات (الشكل 41.5)، وهي مناطق شاحبة أو مُتَثَخِّنَة مُرْتَشِحَة من الجلد تبدو مشابهة في مظهرها لقشرة البرتقالة.

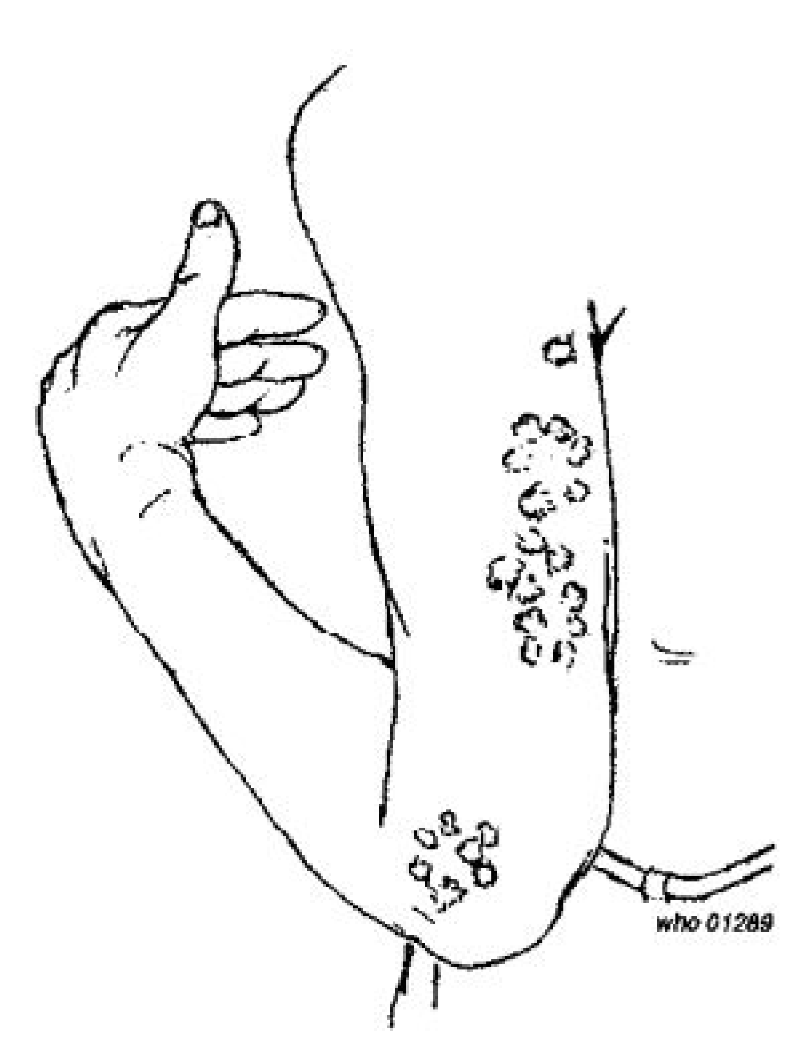
تُنتقى الآفة المُرْتَشِحَة بشدة كما يُنتقى موضع منها لأخذ النموذج، وهذا الموضع ينبغي أن يكون داخل حافة اللطخة مباشرةً حيث يبدو أن الجلد يتغير بسرعة أكبر (وهذا ملاحظة هامة لضمان كشف العصيات).



الشكل 38.5. عصر شحمة الأذن لإيقاف جريان الدم.



الشكل 39.5. أخذ نموذج من آفة الأذن.



الشكل 40.5. آفات الجذام على الذراع.

يمكن أن تؤخذ عينة أيضاً من منطقة جلدية لا تبدي إلا قليلاً من علامات الارتشاح الجذامي.

2. تُطَهَّر المنطقة بقطعة من الشاش مغموسة في الإيثانول، ويُلَهَّب المِلْقَط المِلْقاطي والمِشْرَط.

3. يُعْصَر الموضع بقوة باستعمال الملقط ويُعمل شق بطول 0.5 سم وعمق 2–3 مم بواسطة رأس المشرط (الشكل 42.5).

4. يُثابر على العَصْر بالملقط ويُكْشَط قاع الشق وحوافيه بواسطة ذروة المشرط، ويُجمع مقدار صغير من لب الشق والمادة المصلية. يُطهر الشق بالإيثانول ويُطَبَّق ضماد إذا حدث نزف.

النماذج المأخوذة من الأنف

الأفضل أن تُؤخذ النماذج من استِنْثار للأنف في الصباح الباكر، إذ يَسْتَنْثِر المريض أنفَه بشدة على صحيفة صغيرة نظيفة جافة من السيلوفان أو البلاستيك (البلاستيك).

تحضير الشرائح

النماذج المأخوذة من آفات الآذن والجلد

1. تُفرش المادة المصلية من ذروة النصل على الشريحة بحركة دائرية إلى أن تغطي منطقة قطرها 5–7 مم (الشكل 43.5)، وتُعَنْوَن الشريحة بقلم ماسي؛ علماً أنه يمكن أن تُحَضَّر 2 4 لطاخات من نفس المريض على شريحة واحدة.

2. تُتْرَك الشريحة لتجف في مكان خال من الغبار، ثم تُثَبَّت اللطاخات بإمرار ظهر الشريحة عبر لَهَب مِصْباح كحولي أو مِلْهَب بَنْزِن عدة مرات.

3. تُلَوَّن اللطاخات باستعمال طريقة تسيل ـ نلسن المُعَدَّلَة (الفقرة 3.3.5).

النماذج المأخوذة من الجسم والوجه

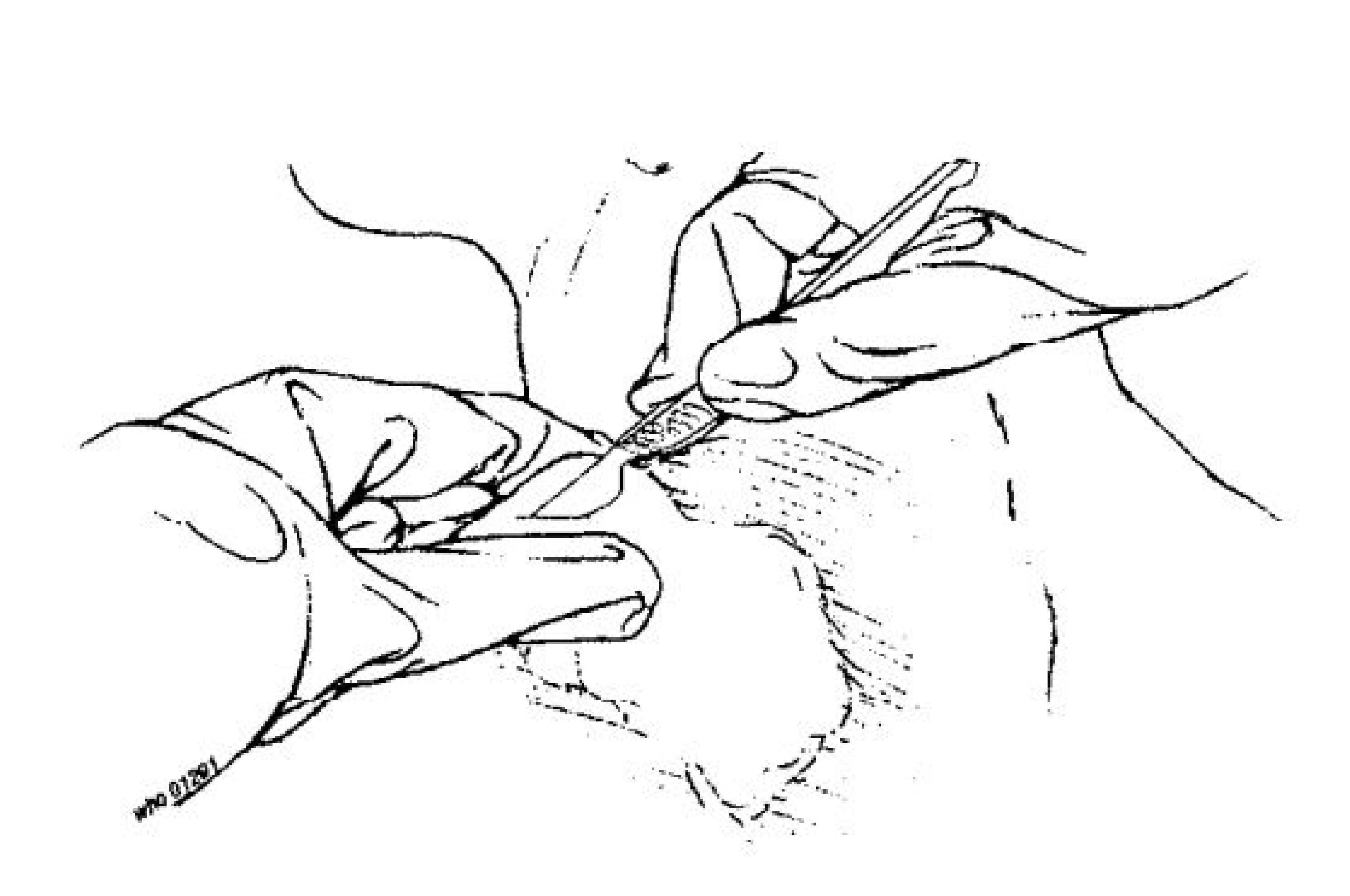
1. يُفْرَش النموذج باستعمال المشرط بحركة دائرية فوق منطقة قطرها 5–7 مم على شريحة زجاجية مُعَنْوَنَة بقلم ماسي. يمكن وضع 3–6 نماذج لذات المريض على شريحة واحدة.

2. تُتْرَك الشريحة لتجف ثم تُثَبَّت كما ورد بالنسبة لنماذج الآذن والجلد (انظر أعلاه)

3. تُلَوَّن اللطاخات باستعمال طريقة تسيل ـ نلسن المُعَدَّلَة (الفقرة 3.3.5).



الشكل 41.5. آفات الجذام على الوجه.



الشكل 42.5. أخذ نموذج من آفة جلدية.



الشكل 43.5. نقل النموذج إلى شريحة.

الشكل 44.5. المتفطرة الجذامية: تصطف عصيات المتفطرة الجذامية: (a) بشكل مجموعات من 5–2 مستلقية بعضها إلى جانب بعض، و(b) بشكل مجموعات أو أكوام أكبر، و(c) بأعداد كبيرة في كتل دائرية (الكرات).

النماذج من الأنف

4. بواسطة ماسِحَة قطنية صغيرة مبللة قليلاً بالمحلول الملحي يُنقل بعض المخاط الأنفي من على صفيحة البلاستيك إلى شريحة مُعَنْوَنَة.
5. تُفرش المادة بشكل متجانس على الشريحة وتُترك لتجف.
6. عندما يتم جفافها تُثبت الشريحة بإمرار ظهر الشريحة بسرعة عبر لَهَب مِصْباح كحولي.
7. تُلَوَّن الشريحة باستعمال طريقة تسيل ـ نلسن المُعَدَّلَة (الفقرة 3.3.5).

3.12.5 الفحص المجهري

تُفحص الشريحة أولاً باستخدام الشيئية الغاطسة 100×.

المتفطرات الجذامية هي عصيات صامدة للحمض، وتبدو بعد تلوينها بطريقة تسيل ـ نلسن المعدلة بلون أحمر على خلفية زرقاء.

الحجم: 1–8 مكم.

الشكل: عصية كبيرة قليلاً مستقيمة أو منحنية قليلاً ذات نهايات مدورة؛ ويمكن أن تبدو حبيبية غالباً بحيث تكون العصية مقسمة إلى عدة أجزاء.

الاصطفاف: تصطف العصيات إما بشكل مجموعات من 2–5 عصيات مستلقية بعضها إلى جانب بعض (الشكل 44.5 a) أو بشكل مجموعات أو أكوام أكبر (الشكل 44.5 b)؛ وأحياناً يمكن أن تُرى أعداد كبيرة في كتل دائرية تدعى "الكرات" (الشكل 44.5 c).

ملاحظة: تحتوي اللطاخات الأنفية أحياناً على عصيات صامدة للحمض غير مُمْرِضَة ليست بعصيات جذامية.

تسجيل النتائج

تُسجل النتائج كما يلي:

– العصيات الصامدة للحمض موجودة، أو
– لم تشاهد عصيات صامدة للحمض.

يمكن أن نُسَجل درجة نتائج الفحص كما يبدو في الجدول 3.5.

المَنْسَب الباكتريولوجي (الجرثومي) Bacteriological index

المنسب الباكتريولوجي BI هو دليل على الحِمْل الجرثومي، ويُحسب بجمع كل النتائج الإيجابية من جميع مواضع البدن التي أُخِذَت منها العينات وتقسيم العدد الإجمالي للنتائج الإيجابية على عدد المواضع، مثلاً:

الجدول 3.5. تسجيل نتائج فحص المتفطرة الجذامية

عدد العصيات في الساحة المجهرية	النتيجة
لا يوجد (< 1 في 100 ساحة)	0
0.01–0.1 (1–10 في 100 ساحة)	1+
0.1–1 (1–10 في 10 ساحات)	2+
1–10	3+
10–100	4+
100–1000	5+
> 1000	6+

- الأذن اليمنى +3
- الأذن اليسرى +2
- الذراع اليسرى +2
- الظهر +1

العدد الإجمالي للإيجابيات هو 8، ويكون المنسب الباكتريولوجي Bi $8 \div 4 = 2$.

المنسب المورفولوجي (الشكلي) Morphological index

يُؤمّن المنسب المورفولوجي مُشْعِراً لعَيُوشيَّة العصيات، ويُعَيَّن كما يلي:

تُفحص 100 عصية على الشريحة المُحَضَّرَة، ثم يُعَدّ عدد العصيات التي تلونت تَلَوُّناً متجانساً بالأحمر على طولها الكامل دون انقطاع. إن هذه العصيات تعدُّ "عصيات قابلة للحياة"، فإذا كان عدد العصيات القابلة للحياة مثلاً 8 فإن المنسب المورفولوجي هو 8%.

ويُستعمل المنسب المورفولوجي للتشخيص الأولي ولمتابعة المرضى المصابين بالجذام الكثير العصيات.

الزرع

لا تتوافر في الوقت الحاضر طريقة لزرع المتفطرة الجذامية في المختبر، على أن هذا الحي يمكن أن يُزْرَع في الأحياء In Vivo في الوسائد الأخمصية لأقدام الفئران أو في المُدَرَّع.

6. الفُطْرِيَّات[1]

1.6 فحص الجلد والشعر لتحري الفطريات

الشَّعْفَة tinea هي عدوى فطرية للجلد، ويمكن أن توجد على سطح الجسم، والفروة، والأظفار، وبين أصابع القدم. تحدث العدوى التبادلية بين البشر بتواتر ويمكن أيضاً أن تُكْتَسَب العدوى من الحيوانات أو التربة المصابة بالعدوى.

تتألف الآفات الدائرية على الجلد من كتلة من الخيطان hyphae المتفرعة، ويمكن للشعر والأظفار المصابة بالعدوى أن تحتوي أيضاً على أبواغ الفطريات.

1.1.6 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية (أو ورق قاتم)
- ساترات
- مِشْرط
- منتاش
- طبق بتري
- ملهب بنزن أو مصباح كحولي
- ماسحات قطنية
- قطن
- محلول الإيثانول 70%.
- محلول الإرْساء mounting باللاكتوفينول وزرقة القطن (الكاشف رقم 33)
- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 20% (الكاشف رقم 45).

2.1.6 الطريقة (2)

1. تُنظف المنطقة المصابة بالعدوى بماسِحَة مغموسة في الإيثانول.
2. يُستعمل مشرط معقم لتشحيط حافة الآفة بلطف وتؤخذ بعض الحَراشِف scales الجلدية وتوضع على شريحة زجاجية أو على قطعة من الورق القاتم حيث يمكن أن تُرى الحراشف عليها بسهولة أكبر. يؤخذ أيضاً بعض الأشعار المُتَقَصِّفَة أو المُتَضَرِّرَة من المناطق المصابة بالعدوى في الفروة باستعمال مِنْتاش tweezer (مِلْقَط) عريض وتوضع فوق الشريحة.
3. توضع قطرة من محلول الإرْساء mounting باللاكتوفينول وزرقة القطن أو هيدروكسيد البوتاسيوم 20% على الحراشف والأشعار (الشكل 1.6)، ثم تُغطى بساتره. إن القلوي القوي سيذيب الكيراتين الموجود في النسيج مما يُمَكِّن من رؤية الخُيَيْطان والأبواغ.

   ملاحظة: هيدروكسيد البوتاسيوم سائل كاوٍ ويجب ألا يمس الجلد.

---

1. في الفقرة 5.8 وصف للطريقة المستخدمة لاستعراف المبيضات المبيض في المفرزات المهلية.
2. يمكن التعرف على عدوى السعفة أيضاً بفحص الشريحة في غرفة مظلمة مضاءة بالضوء فوق البنفسجي، إذ يبدو الشعر المصاب بالعدوى متألقاً.



الشكل 1.6. تحضير شرائح للفحص المجهري لفطور الجلد

الشكل 2.6. ترويق النموذج فوق لهب.

الشكل 3.6. خارج الشعرة:
a: أبواغ غير ناضجة؛
b: أبواغ ناضجة.

الشكل 4.6 . داخل الشعرة:
a: أبواغ غير ناضجة؛
b: أبواغ ناضجة.

4. توضع الشريحة في علبة بتري مغطاة مع بعض القطن المُرَطَّب لتجنب جفاف النموذج، ثم يُترك النموذج ليَروق 5–30 دقيقة بحسب الثخانة؛ ويمكن بدلاً من ذلك تَرْويق النموذج بمسك الشريحة فوق لهب مِلْهَب بنزن أو مصباح كحولي لمدة دقيقة واحدة (الشكل 2.6).

الفحص المجهري

يُفحص النموذج المُرَوَّق باستعمال الشيئيتين 10× و 40×، مع إحكام حجاب قزحية المكثفة لإعطاء تباين جيد.

يمكن أن نُرى خيطان متفرعة وسلاسل من الأبواغ المَفْصِلِيّة المدورة الزاوية؛ ويمكن تفريق الخيطان الفطرية عن البنى النسيجية الأخرى بتفرعها وجدرانها أو حواجزها المعترضة، وهي تتلون بالأزرق بمحلول اللاكتوفينول وزرقة القطن.

يمكن أن تُرى الأبواغ (حبيبات مدورة كبيرة ذات أغشية شفافة) حول محيط الأشعار (الشكل 3.6)، وهذه الأبواغ تدعى أبواغ خارج الشعرة ectothrix.

أما الأبواغ الموجودة داخل الأشعار فتدعى أبواغ محصورة بالشعرة endothrix (الشكل 4.6).

تُسجل النتيجة كما يلي: الخيوط الفطرية أو الأبواغ موجودة أو غير موجودة.

2.6 فحص القيح لتحري الورم الفُطْرِيّ mycetoma

الورم الفطري هو مرض ورمي حُبيبي مزمن في النسيج تحت الجلد والأنسجة العميقة؛ والموضع الأكثر إصابة بالعدوى هو الأقدام حيث يُدعى "قدم مادورا"، أما المواضع المحتملة الأخرى للعدوى فتتضمن اليدين والرأس وجدار الصدر.

يُنتج الورمُ الفطري حبيباتٍ صغيرة تُفَرَّغ عبر جيوب إلى السطح، وتُستعمل هذه الحبيبات لتشخيص المرض.

1.2.6 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- إبر معقمة
- ماء مقطر
- الإيثانول 70%.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).
- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 20% (الكاشف رقم 45).
- كواشف لتلوين غرام (الفقرة 1.3.5).

2.2.6 الطريقة

أخذ النماذج

1. تُستعمل إبرة معقمة لرفع الجُلْبَة crust السطحية فوق أحد الجُيُوب.
2. يُزال بعض القيح المُفْرَغ بعناية ويوضع فوق شريحة.
3. تُضاف قطرة من المحلول الملحي أو الماء ويُفرش القيح بلطف ويُبحث عن الحبيبات علماً أنها تختلف في اللون والحجم والشكل ودرجة القساوة.
4. تُهرس بعض الحبيبات في قليل من الماء المقطر وتوضع فوق شريحتين.
5. تُترك شريحة واحدة لتجف، ثم تُثَبَّت بالإيثانول لمدة 2–3 دقائق وتلون بملون غرام (الفقرة 1.3.5).
6. توضع بضع قطرات من هيدروكسيد البوتاسيوم على الشريحة الأخرى وتغطى بساترة، ثم يُترك هذا المحضر لمدة 10 دقائق.

الفحص المجهري

يتم الفحص بالشيئيتين 10× و 40×، مع إغلاق حجاب قزحية المكثفة جزئياً للحصول على تباين جيد. يجري البحث عن الخيطان المتفرعة والملتوية أو الخيوط المُشَدَّفة (المجزأة). ويمكن أن تبدي الحبيبات الملونة بغرام خيوطاً رقيقة أو مشدفة إيجابية الغرام.

يُسجل التقرير كما يلي:

- وجود قيح من جيب يحتوي على حبيبات (يُعَيَّن اللون والحجم أو المقدار)؛
- يبدي تلوين غرام خيطاناً رقيقة إيجابية الغرام، أو لا يبدي تلوين غرام خيطاناً رقيقة إيجابية الغرام.

3.6 فحص الجلد لتحري النخالية المبرقشة

النُّخَالِيَة المُبَرْقَشَة pityriasis versicolor مرض جلدي شائع في الأقاليم الحارة يسببه فطر يدعى الوَبْيَعاء النخالية Pityrosporum furfur، ويكون الوجه والجسد مستورَيْن بلَطْخات تبدو:

– شاحبة أو متبدلة اللون في المرضى ذوي الجلد الأسود.
– بلون مُصْفَرّ بني أو مُسْمَرّ في المرضى ذوي الجلد الأبيض.

1.3.6 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- شريط من السيلوفان اللاصق
- خافض لسان أو قضيب زجاجي

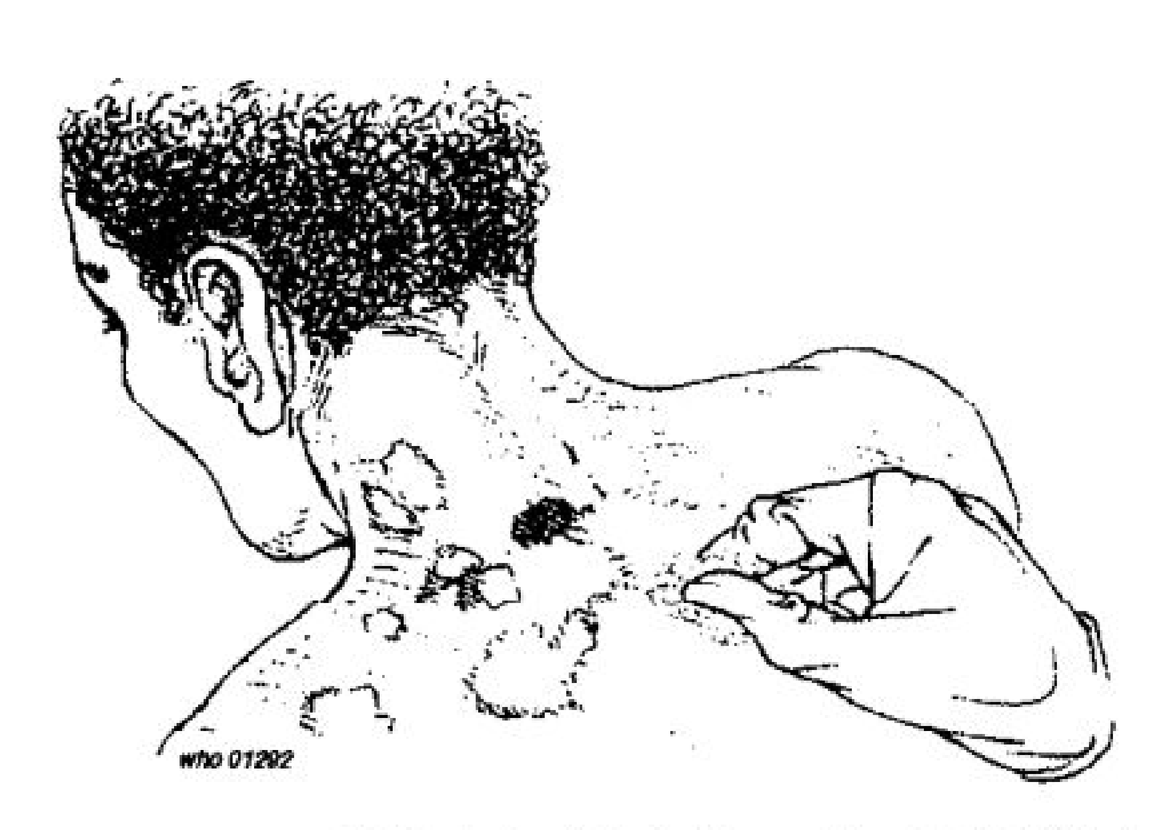
- ملقط
- رَفائِد من الشاش
- محلول مائي لليوزين 1% (الكاشف رقم 23) إذا أمكن (وإلا فيُفْحَص المُحضَّر دون تلوين).

2.3.6 الطريقة

أخذ النماذج

1. تُنْتَقى لطخة تتنامى بسرعة من الجلد المصاب بالعدوى، وتُرطب برِفادَة من الشاش مغموسة في محلول اليوزين (الشكل 5.6)؛ ثم تُترك لتجف دقيقة واحدة. (لا يؤخذ النموذج إذا كان مسحوق الطَّلْق قد استعمل على الجلد، بل يغسل قبل ذلك).
2. تُقْطَع قطعة من الشريط اللاصق طولها حوالي 5 سم ثم تُطبق على اللطخة بحيث تتخطى إحدى حوافيها (الشكل 6.6).
3. يُلصق الشريط اللاصق على الجلد ويُضغط ضغطاً جيداً من أحد طرفيه إلى الآخر بإمرار خافض لسان أو قضيب زجاجي فوقه عدة مرات (الشكل 7.6).

يُنْتَزَع الشريط اللاصق بواسطة الملقط، ويوضع على الفور على شريحة مجهرية ووجهه اللاصق نحو الأسفل (الشكل 8.6).



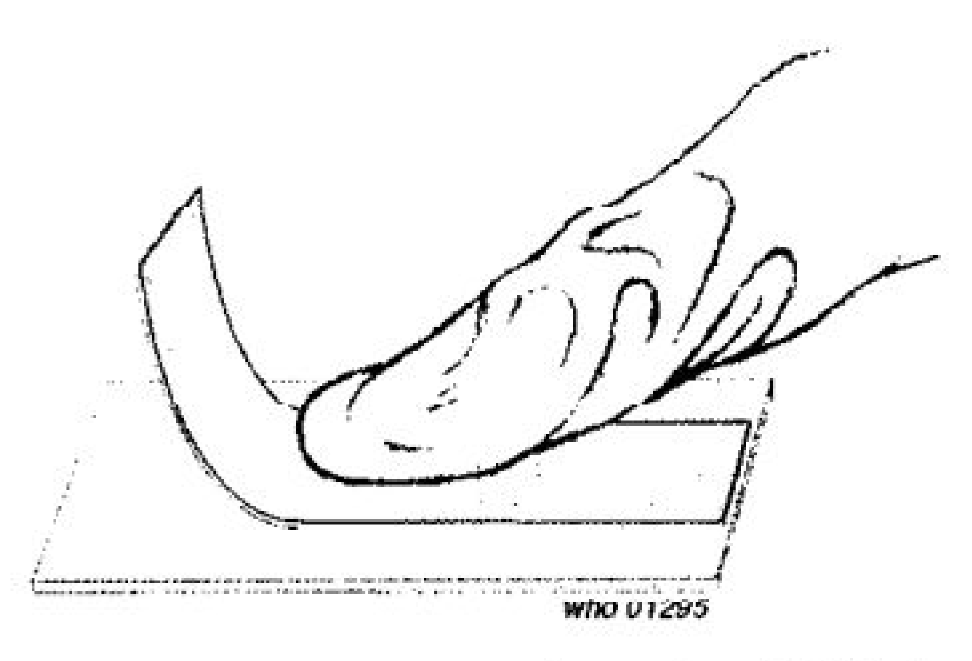
الشكل 5.6. تلوين لطخات الجلد المعدية بالوبيغاء النخالية باليوزين.



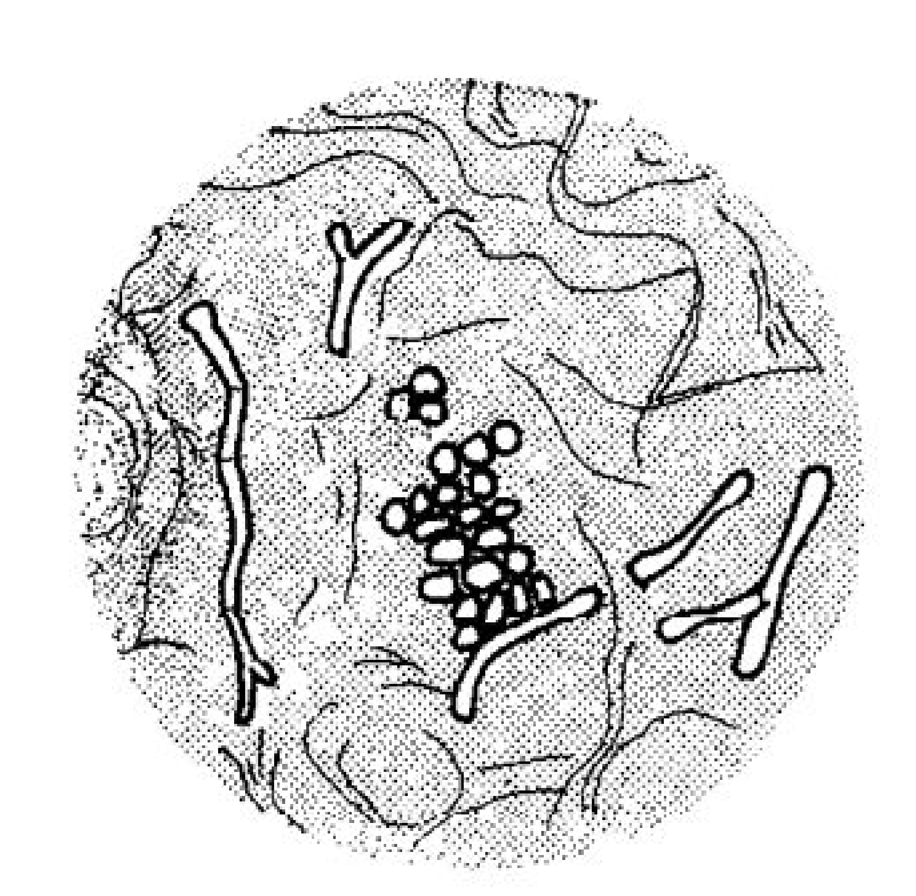
الشكل 6.6. تطبيق شريط لاصق على لطخة جلدية.



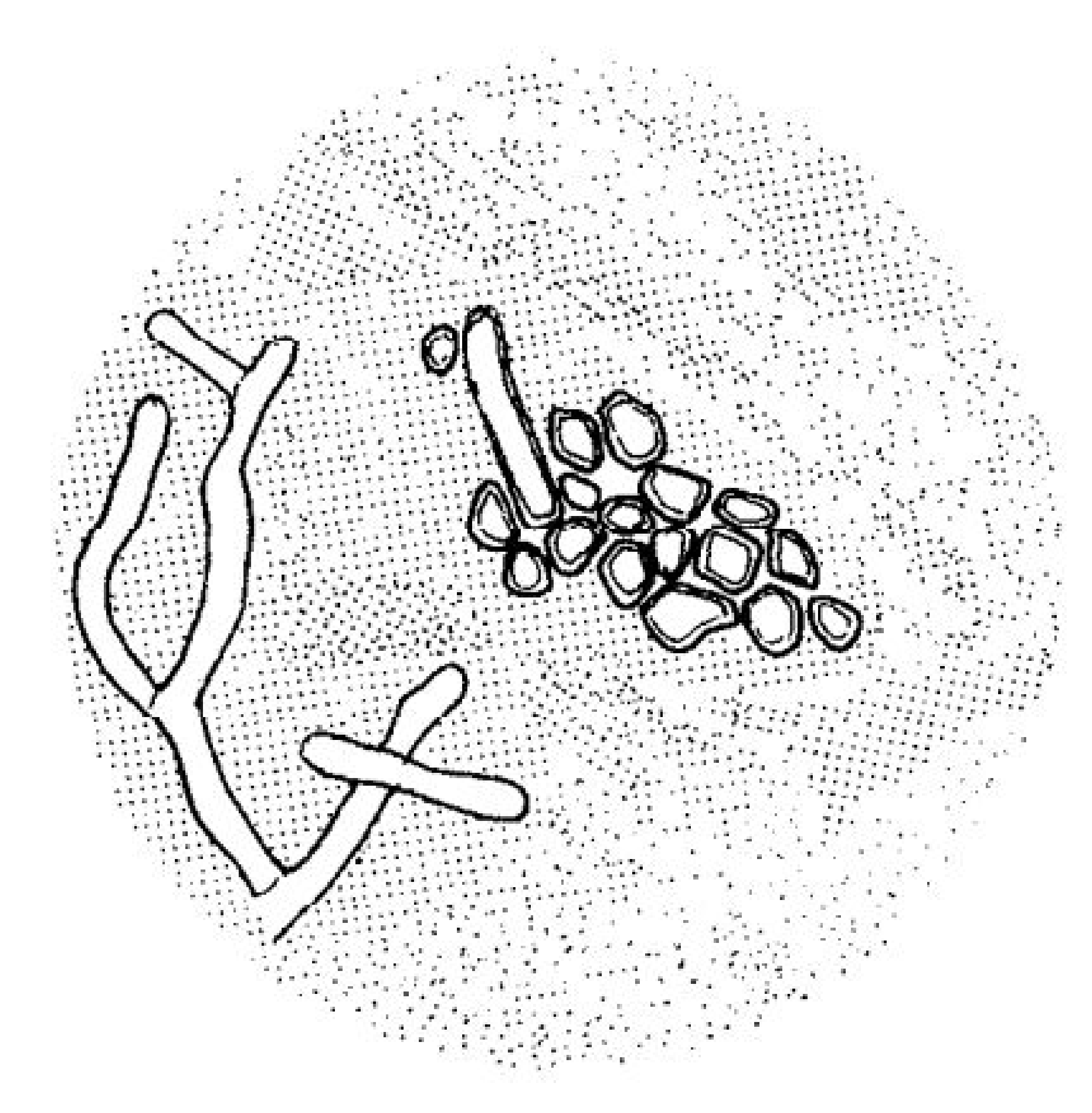
الشكل 7.6. أخذ النموذج الجلدي.



الشكل 8.6. نقل النموذج إلى شريحة.



الشكل 9.6. الوبيغاء النخالية (×40).



الشكل 10.6. الوبيغاء النخالية (×100).

الفحص المجهري

تُفحص الشريحة بكاملها تحت المجهر بالشيئية ×40 إلى أن تُشاهد كومة من حبيبات كبيرة (الأبواغ) (الشكل 9.6)، وتبدو هذه الأبواغ بيضاء على دساحة وردية اللون إذا كان الجلد قد عومل بالبوزين ولكنها تكون مَرْئِيَّةً كذلك في المحضرات غير الملونة.

تُبدَّل الشيئية الجافة إلى الشيئية الغاطسة ×100 لفحص التفاصيل (الشكل 10.6).

الأبواغ

الحجم: بقطر 3–8 مكم.

الشكل: مدورة أو مستطيلة بعض الشيء، ثخينة الجدار، مُصْطَفَّة في عناقيد أو أكوام. ويُرى أحياناً بعض التَّبَرْعُم.

خيوط الأفْطُورَة

الحجم: بطول 20–40 مكم وعرض 5 مكم.

الشكل: عصيات طويلة مُنْحَنِيَة ومُلْتَوِيَة، بشكل الإصبع، وذات تفرعات.

القسم الثالث

7. فحص البول

فحص البول هو استقصاء أساسي في المرضى الذين يُشْتَبَه بوجود اضطرابات كلوية أو عداوى في السبيل البولي لديهم، كما أن هناك الكثير من المرضى الذين لا يُبْدون أعراضاً سريرية إنما يمكن بفحص البول تشخيص عداوى لم تُعْرَف سابقاً في السبيل البولي لديهم.

1.7 جمع نماذج البول

يجب أن تكون أواني جمع البول واسعةَ الفوهة ونظيفة وجافة، وإذا كان نموذج البول سيُنْقَل لفترة قصيرة أو طويلة من الزمن فيجب أن يحتوي على حافظ مناسب لاتقاء فرط النمو الجرثومي أو تَفْقيس البيوض العَيْوسَة.

1.1.7 أنماط نماذج البول

نموذج بول الصباح الباكر

يُؤمِّن بولُ الصباح الباكر العينةَ الأكثر تركيزاً.

نموذج البول العشوائي

إن نموذج البول العشوائي المأخوذ في أي وقت من اليوم يُمَكِّنُ المختبرَ من تحري المواد التي هي مُشْعِرَات لعدوى الكلية.

نموذج بول 24 ساعة

يُجمع بول 24 ساعة في قارورة شفافة بسعة 2 لتر وذات سدادة. ينهض المريض من النوم في بداية الصباح ويبول، ويُرمى البول المُفْرَغ عندئذٍ ولا يُجمع، ثم يُجمع كل البول الذي يُبال بقية اليوم وكذلك في الليل في القارورة. وفي الصباح التالي ينهض المريض من نومه ويضيف النموذج الأول الذي يَبوله في الصباح إلى القارورة، ثم تؤخذ القارورة على الفور إلى المختبر. يُقاس حجم البول في مِخْبار مُدَرَّج ويُسَجَّل هذا الحجم.

نموذج بول منتصف الجريان (منتصف البيلة)

يضع المريض أثناء التبول إناءً مفتوحاً ليعترض مجرى البول ويجمع نحو 20 مل من البول، ثم يُغطى الإناء على الفور.

نموذج البول الانتهائي

يبول المريض القسمَ الأخير من البول في إناء مفتوح.

نماذج البول المأخوذة باستعمال قِثْطار

يجب أن لا يؤخذ البول بالقثطار إلا من قبل طبيب، مُؤهَّل أو ممرضة مؤهلة، ويُستعمل هذا الإجراء لبعض الاختبارات الباكتريولوجية (الجراثيمية) وخاصةً في النساء، على أن النموذج المأخوذ بالطريقة الاعتيادية بعد التنظيف الجيد مقبولٌ وكافٍ عادةً لتحقيق هذا الغرض.

نماذج البول المأخوذة من الرُضَّع

يمكن أن يُجمع البول في كيس من البلاستيك (البلاستيك) ذي فوهة لاصقة حيث يُثَبَّت الكيس حول الأعضاء التناسلية للرضيع ويُترك في مكانه 1–3 ساعات بحسب الفحص المطلوب، كما يمكن أن تُستعمل أكياس عمليات فَغْر القولون.

2.1.7 حِفْظ نماذج البول

- إن البولَ المُبال في عيادة أو في المختبر والمفحوص فوراً لا يتطلب الحفظَ.
- إذا أُخِذَ البول للتحقق من وجود بيوض البِلْهارْسِيّة الدموية ولكنه قد لا يُفحص إلا بعد عدة ساعات، فيجب أن يُحَمَّض ببضع قطرات من حمض الأسيتيك 10% (الكاشف رقم 2).

2.7 فحص نماذج البول

1.2.7 المظهر

- يكون البول في الحالة السوية رائقاً بلون أصفر تِبْني، ويمكن أن يبدو البول الأكثر تركيزاً بلون أصفر قاتم.
- إن وجود الكريات الدموية أو فرط الأملاح يمكن أن يجعل البولَ عَكِرَ المظهر.
- إن الأصبغة الآتية من مواد الصفراء يمكن أن تجعل البول يبدو بلون أصفر قاتم أوبني.
- يمكن أن يبدو البول أحياناً عديمَ اللون.

يُسجل المظهر كما يلي:

- رائق أو عَكِر؛
- عديم اللون أو أصفر شاحب أو أصفر قاتم أو بني.

2.2.7 اختبار تحري وجود الدم

يمكن أن يحدث ارتفاع مستويات الكريات الحمر والهيموغلوبين في البول:

- بعد التمرين البدني الشديد؛
- في عداوى السبيل المهبلي؛
- في عداوى الطفيليات (مثل داء البلهارسيات)؛
- في التهاب كُبَيْبات الكلى الحاد؛
- في التهاب المثانة أو التهاب الإحليل الحاد؛
- في المرضى الذين يعانون من بعض الأورام.

تُرى كريات الدم الحرة بسهولة بالفحص المجهري بعد العبيذ (الفقرة 7.2.7).

يمكن أن تُكشف كريات الدم الحمراء المنحلة باستعمال غَمِيْسَة **dipstick** للبول تحتوي على قطعة خاصة لكشف الدم. وتتوافر غَمائِس البول لكشف مادة واحدة (مثل الدم أو الغلوكوز أو البروتين) أو لكشف عدة مواد (مثل النتريت وإستيراز الكرية البيضاء).

الطريقة

توضع الغمائس في البول وتُرفع فوراً، ثم تُقارَن مع لوحة مُقارَنَة بعد زمن ملائم يكون مُعَيَّناً أيضاً على اللوحة.

تُعطي تبدلات اللون الملاحظة على الغميسة تقديراً نصف كمي لمقدار المادة الموجودة، ويمكن أن يُسَجَّل هذا كما يلي: سلبي أو + أو ++ أو +++ أو ++++ أو كقيمة تقريبية لتركيز المادة المُخْتَبَرَة.

يجب أن تُخْتَزَن الغمائس وفقاً لتعليمات الشركة الصانعة.

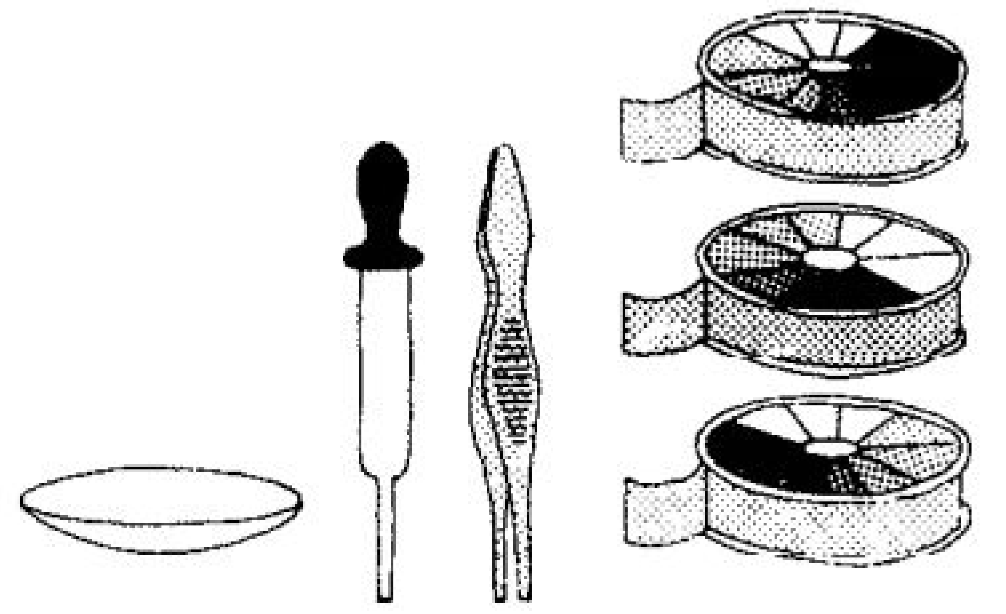
3.2.7 قياس الباهاء pH

إن البول الطازج السوي يكون حمضياً خفيفاً مع درجة باهاء pH حوالى 6.0.

وفي بعض الأمراض يمكن أن تزداد درجة باهاء البول أو تنقص.

المبدأ

- يُغمس ورق مُشْعِر مُلَوَّن في البول (أو يوضع في زجاجة ساعة ويضاف إليه بضع قطرات من البول).
- يتغير اللون تبعاً للباهاء pH.
- ثم يُقارن هذا الورق مع لائحة معيارية شاهدة تدل على قيمة الباهاء pH المُوافِقَة.

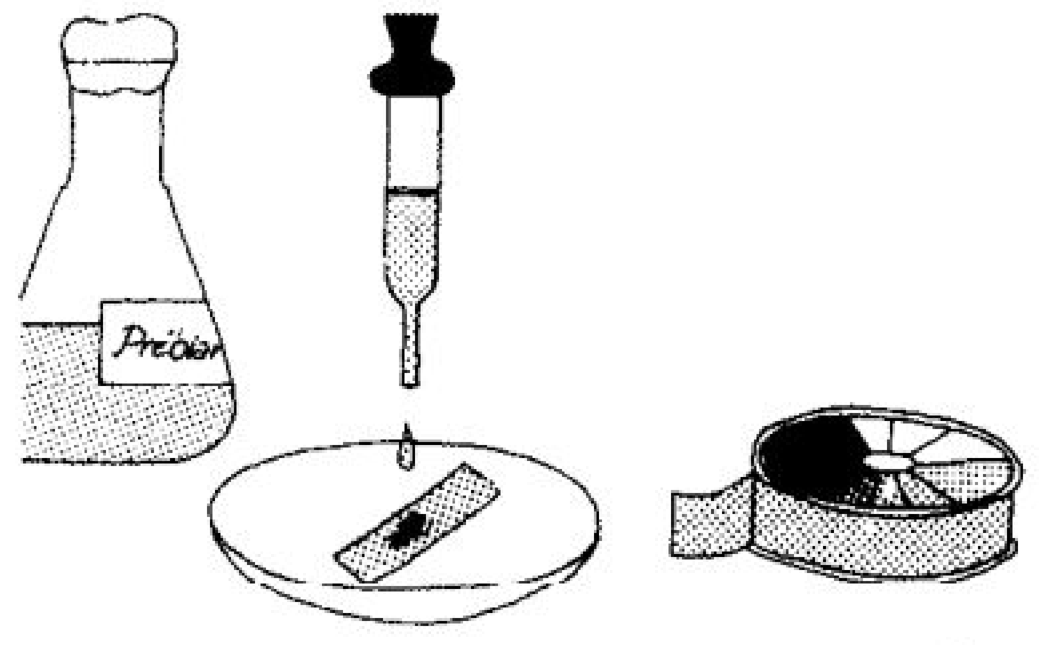


الشكل 1.7. المواد المستعملة لقياس باهاء pH البول.

المواد (الشكل 1.7)

- زجاجات ساعة
- قَطَّارَة
- مِلْقَط
- أوراق مُشْعِرَة عامة (لقياس الباهاء pH من 1 إلى 10).
- أوراق مُشْعِرَة لمجال محدود للباهاء pH: من أجل المجال 5.0–7.0 والمجال 6.0–8.0.

وينبغي أن يكون نموذج البول طازجاً وتم جمعه قبل حوالي ساعة.

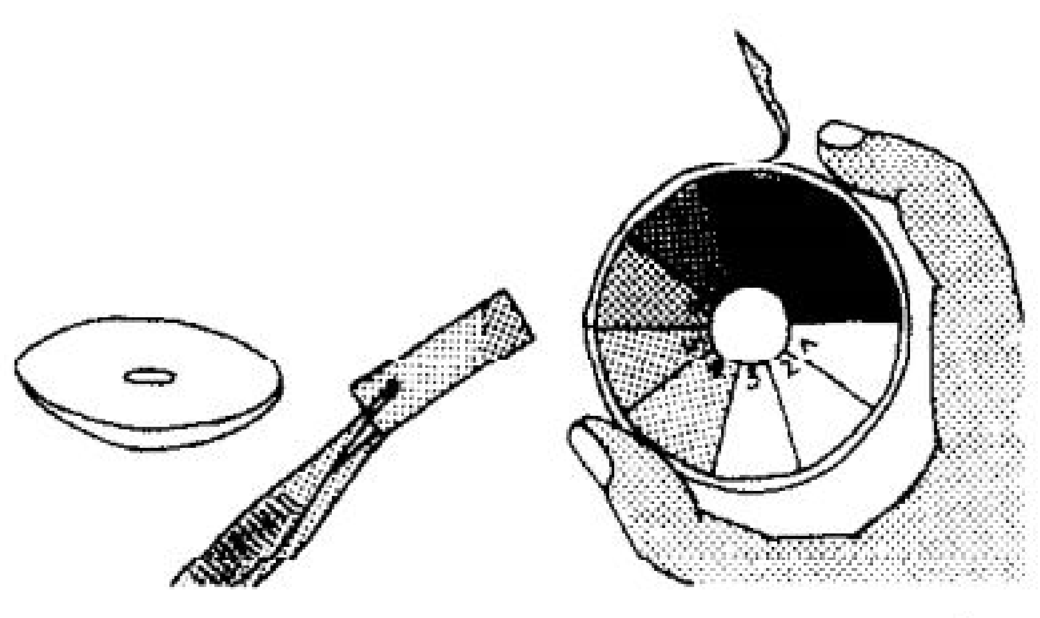


الشكل 2.7. تطبيق نموذج البول على ورق مشعر عام.

الطريقة

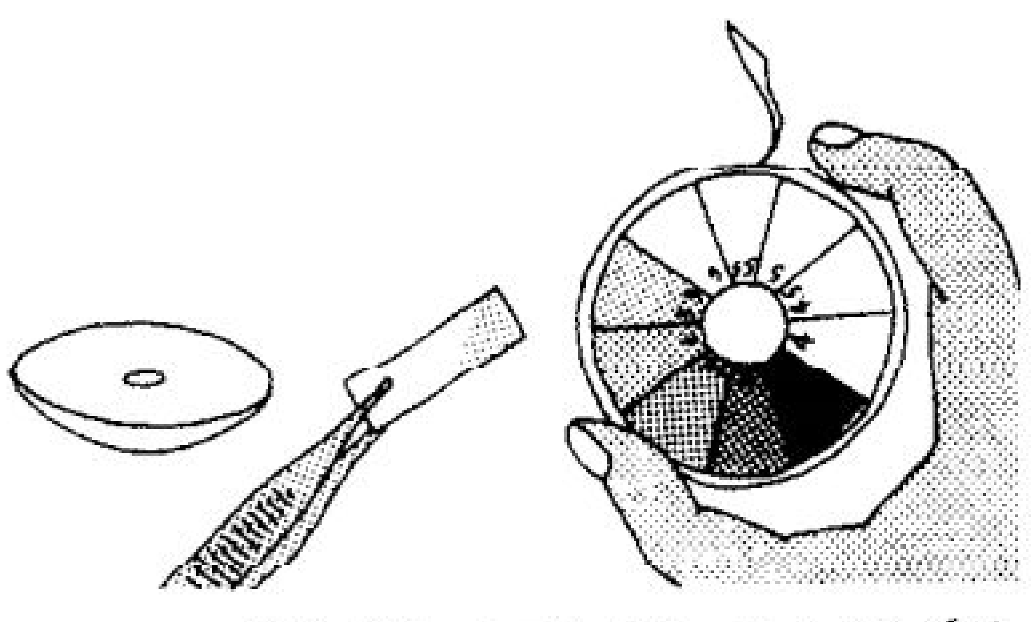
1. توضع في زجاجة الساعة قطعة من ورق المشعر العام.
   تُنَقَّط عدة قطرات من البول الطازج من قطارة على الورق (الشكل 2.7).
   أو بدلاً من ذلك تُغمس ورقة الاختبار مباشرةً ضمن البول في الوعاء.
2. تُلْتَقَط قطعة الورق بالملقط.

يقارن اللون الناتج مع الألوان الموجودة على اللائحة المعيارية (الشكل 3.7)، وتقرأ وحدة الباهاء pH المعطاة لِلَّون الأقرب إلى اللون الناتج على ورقة الاختبار.



الشكل 3.7. التحقق من الباهاء pH باستعمال الورق المشعر العام.

3. تبعاً للنتيجة التي تم الحصول عليها يتم اختيار شريط من الورق المشعر يتناسب مع المجال المحدود، مثلاً: إذا كان الباهاء 6 يُستعمل الورق المشعر للمجال 5.0–7.0 وإذا كان الباهاء 8 يُستعمل الورق المشعر للمجال 6.0–8.0.
4. يُعاد الاختبار في زجاجة ساعة أخرى باستعمال الورق ذي المجال المحدود الموافق، ثم تقرأ باهاء البول على اللائحة المعيارية (الشكل 4.7)، مثلاً: باهاء=6.2، أو باهاء =7.5.



الشكل 4.7. التحقق من الباهاء pH باستعمال الورق المشعر لمجال محدود للباهاء.

إن الباهاء السوي للبول حوالي 6.0 (المجال 5.0–7.0). ويشاهد الباهاء الحمضي 4.5–5.5 في بعض أشكال الداء السكري، أو التعب العضلي، أو الحُماض. الباهاء القلوي (7.8–8.0) يشاهد في عداوى السبيل البولي، والنظام الغذائي النباتي.

الباهاء والرواسب البلورية

إن تعيين باهاء البول مفيد لاستعراف الرواسب البلورية (الفقرة 7.2.7، ص 245–248).

تترسب بعض البلورات في البول الحمضي فقط، ويترسب بعضها في البول القلوي فقط.

مثلاً:

– البول الحمضي: الأوكسالات، حمض اليوريك؛

– البول القلوي: الفُسْفات، الكَرْبونات.

ليس للرواسب البلورية في البول أهميةٌ تشخيصية إلا في أمراض نادرة جداً.

4.2.7 كشف الغلوكوز

المبدأ

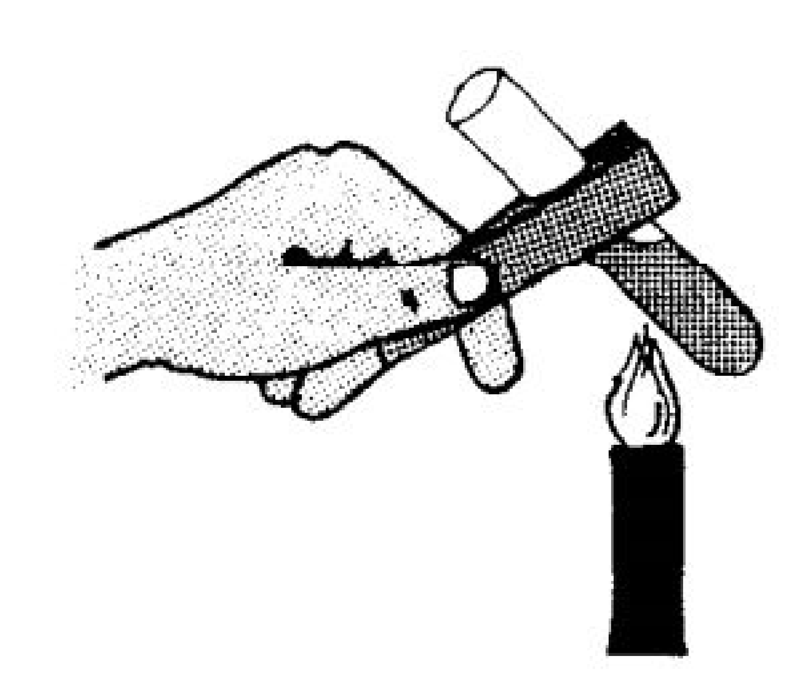
إن الغلوكوز هو السكر الأكثر وجوداً في البول وخاصةً لدى المرضى السكريين والمرضى المصابين بالفشل الكلوي المزمن، وهو مادة مختزلة (مُرْجِعَة)؛ فهو يَخْتَزِل سلفات النحاس ذات اللون الأزرق في محلول بنيديكت إلى أكسيد النحاس ذي اللون الأحمر والذي هو غير ذَوَّاب.

اللاكتوز هو سكر راد (مرجع) أيضاً ويُشاهد أحياناً في بول النساء الحوامل.

المواد والكواشف

- أنابيب اختبار.
- ممسك خشبي لأنابيب الاختبار.
- رفرف لأنابيب الاختبار.
- دَوْرَق أو علبة معدنية.
- مِلْهَب بَنْزِن أو مصباح كحولي.
- مِمَصَّة قَطَّارَة.
- مِمَصّ مُدَرَّج، 5 مل.
- محلول بنيديكت (الكاشف رقم 10).

الطريقة



الشكل 5.7. طريقة بنيديكت لكشف المواد المختزلة (المرجعة).

1. يُنقل بالممص 5 مل من محلول بنيديكت إلى أنبوب اختبار.
2. تضاف 8 قطرات من البول وتُمْزَج جيداً.
3. تُغْلَى على ملهب بنزن أو على مصباح كحولي مدة دقيقتين (الشكل 5.7)، أو يوضع أنبوب الاختبار في دورق أو علبة معدنية تحتوي على ماء يغلي مدة 5 دقائق.
4. يوضع أنبوب الاختبار في حامل أنابيب الاختبار ويُترك ليَبْرُد إلى حرارة الغرفة.

يُتَحَرَّى تَغَيُّر لون المحلول وتَشَكُّل أي رُسابة، وتُسجل النتيجة كما يبدو في الجدول 1.7.

يمكن أيضاً كشف الغلوكوز في البول باستعمال غَمِيْسَة للبول (الفقرة 2.2.7).

5.2.7 كشف البروتين وتقديره

تُلاحظ مستويات البروتين المرتفعة في بول المرضى المصابين بـ:

– البلهارسية البولية.

– مرض كلوي مزمن.

الجدول 1.7 . تسجيل نتائج طريقة بنيديكت لكشف المواد الرادة (المرجعة) في البول.

اللون	النتيجة
أزرق	سلبي
أخضر	حدي
أخضر مع رُسابة صفراء	+
أصفر إلى أخضر قاتم	++
بني	+++
برتقالي إلى أحمر آجرّي	++++

– التهاب الحويضة والكلية.
– الداء السكري
– اضطرابات جهازية (الذئبة الحمامية).
– الورم النقيومي العديد.

على أن البيلة البروتينية الانتصابية –وهي شكل من البيلة البروتينية الوظيفية يُرى عادةً لدى الرجال الفتيين– والتي تحدث لدى الوقوف، وتختفي بالاضطجاع، وليس لها أهمية مرضية.

المبدأ

عندما يُضاف السلفوساليسيليك إلى البول المحتوي على البروتين، تَتَشَكَّل رُسابَة بيضاء. وهذا يحدث في كل أنواع البروتينات تقريباً، بما فيها الألبومين والغلوبولينات.

المواد والكواشف

- مقياس الطيف الضوئي
- أنابيب اختبار.
- رفوف أنابيب اختبار
- منبذة
- سدورة آلية
- مصل بقري أو ألبومين مصل بشري
- محلول ثلاثي كلور حمض الأسيتيك 5% (الكاشف رقم 62) ممدد بنسبة 1: 4 في الماء المقطر
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)
- شاهد إيجابي وشاهد سلبي
- ألبومين عمل معياري، محلول 0.005% (يحضر من ألبومين مخزَّن معياري، محلول 5%، يمدد بنسبة 1: 100 في محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53))

يمكن تقسيم ألبومين العمل المعياري إلى قسامات، وتخزينه في حرارة – 20 س لمدة تصل إلى 6 أشهر.

إن الألبومين المخزَّن المعياري غير متوفر تجارياً، لذا يمكن استخدام معايير تجارية أساسها الألبومين، وتحوي الألبومين والغلوبولين، لتحضير محلول عمل معياري بتركيز مناسب. وكما هو الحال للألبومين المعياري، فإن معيار العمل يمكن تقسيمه إلى قسامات وتخزينه في حرارة – 20 س لمدة تصل إلى 6 أشهر.

الطريقة

جمع النماذج

يجب استخدام نماذج بول عشوائية أو مزمّنة، أو بول 24 ساعة (الفقرة 1.1.7). ويجب عدم إضافة أية مادة حافظة إلى النموذج. وينبغي حفظ النماذج التي تجمع لمدة 24 ساعة في حرارة 4–8 م خلال فترة الجمع، لتجنب النمو البكتيري.

كما يجب حفظ النماذج التي جمعت في حرارة 4 م إلى أن يتم تحليلها. وفي حال تأخير التحليل لأكثر من 24 ساعة، يجب حفظ النماذج في حرارة –20 م.

التقنية

1. يضاف 1.6 مل من البول إلى نموذج البول إلى كل من أنبوبي الاختبار (الاختبار والشاهد). ويكرر الإجراء ضمن معايير العمل والمراقبة.
2. يضاف 0.4 مل من محلول ثلاثي كلور حمض الأسيتيك إلى كافة أنابيب الاختبار وتمزج جيداً. ثم يترك ليرقد في حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.
3. تثفل أنابيب اختبار الشاهد بسرعة 2000 دورة لمدة 10 دقائق.
4. باستخدام مقياس الطيف الضوئي، تقاس وتسجل الكثافة البصرية لأنابيب الاختبار والشاهد بطول موجة 620 نانومتر. وينبغي وضع مقياس الطيف الضوئي على رقم صفر باستخدام الماء المقطر قبل إجراء أي قياس، كما تجب معايرته حسب الوصف فيما بعد. هذا وإن مجال تحليل القياس باستخدام هذه الطريقة هو 100–1000 ملغ/ ل.

الحساب

يحسب تركيز البروتين في نموذج البول باستخدام الصيغة التالية:

$$\frac{OD_T - OD_{TB}}{OD_R - OD_{RB}} \times C$$

حيث

C = تركيز محلول التعيير

ODR = الكثافة البصرية لمعيار العمل

ODRT = الكثافة البصرية لمعيار العمل للشاهد

ODT = الكثافة البصرية لنموذج الاختبار

ODTB = الكثافة البصرية لنموذج الشاهد

ملاحظة:

- إذا استخدم ضابط مصلي للتعيير، فيجب استخدام مادة مستقلة لمراقبة الجودة.
- بما أن كمية البروتين المفرزة في البول تتفاوت كثيراً، يجب تأكيد أية نتيجة إيجابية بإعادة الاختبار على نموذج آخر أو أكثر.
- إذا استخدمت هذه الطريقة لتحري البيلة البروتينية المجهرية (التي قد ترتبط ببيلة احينية مجهرية في غياب أذية الأنابيب الكلوية، أو العداوى البولية، أو المعالجة ببعض الأدوية) لدى المرضى ذوي الاختطار العالي، مثل مرضى الداء السكري، فيجب تطبيق التعديلات التالية على الخطوتين 2 و4:

2. تترك الأنابيب لترقد في درجة حرارة الغرفة لمدة 35 دقيقة بعد المزج.

4. باستخدام مقياس الطيف الضوئي، تقاس وتسجل الكثافة البصرية لأنابيب الاختبار والشاهد بطول موجة 405نانومتر.

إن المجال التحليلي لهذه الطريقة المعدلة هو 25–700 ملغ/ل.
يمكن أيضاً كشف البروتين في البول باستخدام غميسة (الفقرة 2.2.7)

6.2.7 كشف الأجسام الكيتونية

لا يحتوي البول السوي على أجسام كيتونية، ويمكن أن يظهر الأسيتون (الخَلُّون) وسائر الأجسام الكيتونية الأخرى في البول:

– في الداء السكري الشديد أو غير المعالج؛
– في بعض الحالات الأخرى (التّجفاف، القيء، سوء التغذية، المَخمَصَة المديدة، وبعد مجهود شاق).

المبدأ

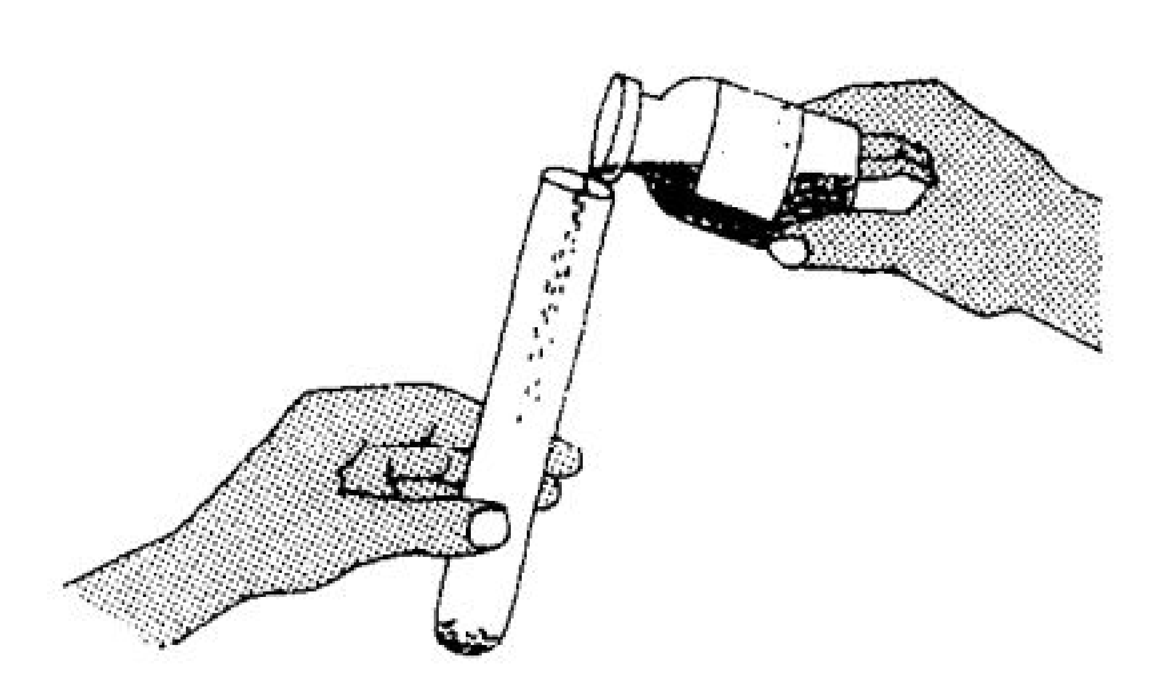
عندما يضاف نِتْروبروسّيد الصوديوم (خُماسي سيانو فيرّات نِتْروزيل الصوديوم (III)) إلى البول المحتوي على أجسام كيتونية، يظهر لون أرجواني.

المواد والكواشف

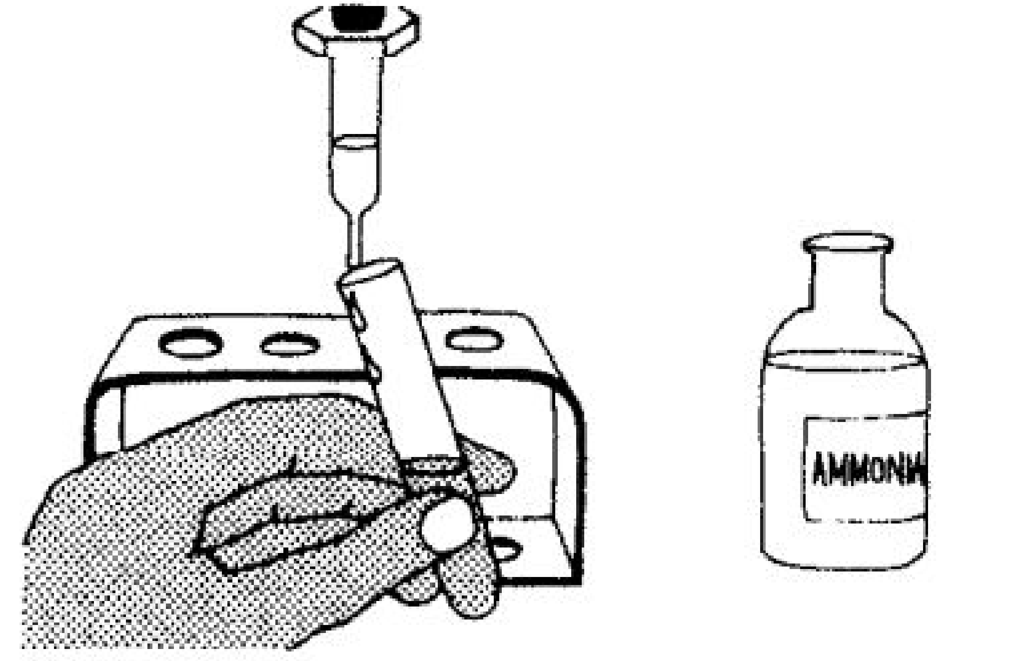
- أنابيب اختبار
- رفرف لأنابيب الاختبار
- أسطوانة مدرجة سعة 10 مل
- مَمَصّة قطّارَة
- نتروبروسيد الصوديوم
- حمض الأسيتيك
- أمونيا (نشادر).

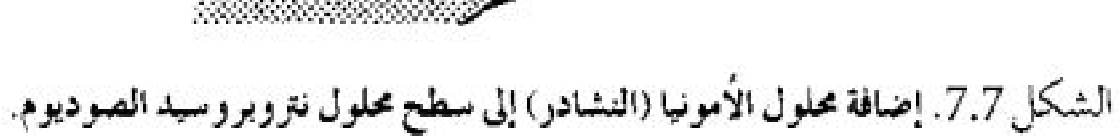
الطريقة

1. قبل إجراء الاختبار مباشرة توضع بضع بلورات من نِتْروبروسّيد الصوديوم في أنبوب اختبار باستعمال ما يكفي لتغطية قاع الأنبوب (الشكل 6.7).
2. يُضاف 5 مل من الماء المقطر، ويُرَجّ جيداً حتى تذوب البلورات أو تكاد. (لا يُتَوَقَّع أن تذوب كل البلورات لأن المحلول مُشْبَع).
3. في أنبوب اختبار آخر يقاس 10 مل من البول.
4. تضاف إلى البول 4 قطرات من حمض الأسيتيك تليها 10 قطرات من محلول نتروبروسيد الصوديوم المُحَضَّر حديثاً وتُمْزَج جيداً.
5. مع إسناد ذروة المِمَصّة القطارة إلى جدار الأنبوب تُتْرَك 20 قطرة (1 مل) من محلول الأمونيا تَنْساب على سطح السائل (الشكل 7.7)، ويُنْتَظَر 5 دقائق قبل قراءة النتيجة: يمكن أن تكون النتيجةُ الإيجابية واضحةً قبل هذا الوقت.



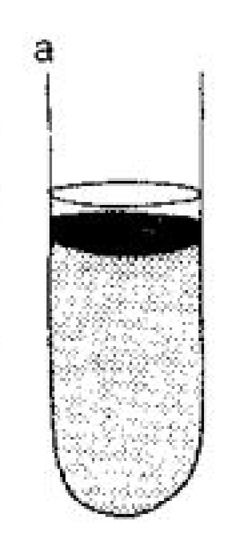
الشكل 6.7. **تحضير محلول نتروبروسيد الصوديوم.**




الشكل 7.7. **إضافة محلول الأمونيا (النشادر) إلى سطح محلول نتروبروسيد الصوديوم.**

الجدول 2.7. تسجيل نتائج اختبار كشف الأجسام الكيتونية في البول

تبدل اللون	النتيجة
لا يوجد	سلبية
حلقة متوردة	+
حلقة حمراء	++
حلقة أرجوانية	+++



الشكل 8.7. اختبار المواد الكيتونية في البول.
a: تفاعل إيجابي؛
b: تفاعل سلبي

إذا كانت النتيجة إيجابية (الشكل 8.7) تظهر حلقة أرجوانية على سطح البول، أما إذا كانت النتيجة سلبية فلا يتبدل اللون.

تُسجل النتائج كما يبدو في الجدول 2.7.

يمكن أيضاً أن تُكشف الأجسام الكيتونية في البول باستعمال غَميسَة للبول (الفقرة 2.2.7).

7.2.7 كشف عناصر شاذة

المبدأ

يحتوي البول على خلايا وبلورات مُعَلَّقَة فيه يمكن أن تُجَمَّع إما بواسطة التنبيذ أو بترك البول قائماً والسماح للجسيمات المُعَلَّقة بأن تُشَكِّل ثُفالَة. ويمكن أن يُفحص الراسب البولي الناتج بواسطة المجهر.

في بعض أمراض السبيل البولي تتغير الرواسب البولية تَغَيُّراً بَيِّناً ويمكن أن توجد فيه العناصر الشاذة التالية:

– كريات الدم البيضاء
– عدد شاذ من الكريات الحمر
– بلورات شاذة (نادرة جداً)
– أثاريف أو بيوض طفيلية (المُشَعَّرَة المهبلية، البِلْهارْسِيَّة الدموية، الشُرْمِيَّة الدُوَيْدِيَّة[1]).
– جراثيم
– فُطريات
– أسطوانات شاذة

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- مِنْبَذَة
- أنبوب تنبيذ مخروطي سعة 15 مل.
- مِمَصّ باستور
- ساترات
- فورمالدهيد
- ماء مقطر


1. انظر أيضاً الفقرة 8.2.7

الطريقة

جمع النماذج

يجب أن يكون البول المراد فحصه بالمجهر طازجاً مُبالاً في وعاء نظيف جاف، علماً أن نموذج بول منتصف الجريان (منتصف البيلة) هو الأكثر فائدة (الفقرة 1.1.7). يمكن أن يحتوي البول المُختَزَن في الثلاجة على كمية مفرطة من الأملاح المُتَرَسِّبَة وبالتالي فهو غير مناسب للفحص المجهري.

يمكن أن يُحفظ البول لفحص الرّاسِب مجهرياً بإضافة 8–10 قطرات من محلول الفورمالدهيد 10% (الكاشف رقم 28) لكل 300 مل من البول. والبول المحفوظ بهذه الطريقة مناسب للاختبارات الأخرى.

تحضير الرّاسِب

1. يُمزج البول بلطف ويُسْكَب في أنبوب التنبيذ حوالي 11مل منه.
2. يُنَبَّذ بسرعة متوسطة (قوة نابذة 2000 جاذبية) لمدة خمس دقائق.
3. يُسْكَب الطافي بقلب الأنبوب بسرعة دون خَضْخَضَتِه. (يمكن أن يُستعمل الطافي للاختبارات الكيميائية الحيوية).
4. يُعاد تعليق الراسب ويُمزج برَجّ الأنبوب.
5. تُنقل قطرة واحدة من الراسب إلى شريحة باستعمال مِمَصّ باستور. تُسْتَر القطرة بساترة.
6. تُعَنْوَن الشريحة باسم المريض أو برقم النموذج.

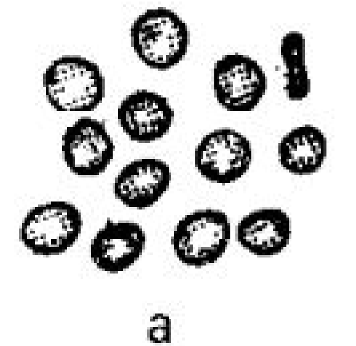
الفحص المجهري

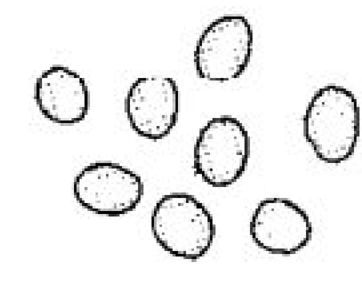
تُستعمل الشيئية 10× مع خفض المكثفة وتُفحص الساترة بكاملها بدقة للبحث عن بيوض البلهارسية الدموية حين وجود ما يوحي بها.

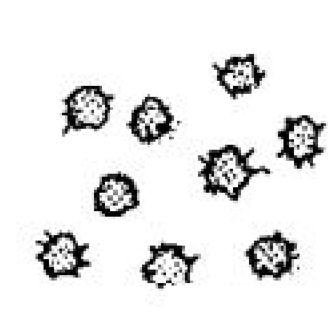
تُستعمل الشيئية 40× مع خفض المكثفة أو إنقاص فتحة المكثفة وتُفحص منطقة الساترة بدقة مرةً أخرى وتُسجل أي موجودات بشكل قيمة كمية لكل ساحة واحدة بالتكبير العالي.

يمكن أن يوجد في البول ما يلي:

- الكريات الحمر
- الكريات البيضاء
- الخلايا الظهارية
- الأسطوانات
- الفُطْرِيّات
- البلورات
- بيوض الطفيليات ويرقاتها
- المُشَعَّرة المهبلية
- النطاف







الشكل 9.7. الكريات الحمراء:
a: كريات سالمة؛ b: كريات مفرضة؛
c: كريات منتبجة.

الكريات الحمر (الشكل 9.7)

يمكن أن تكون الكريات الحمر:

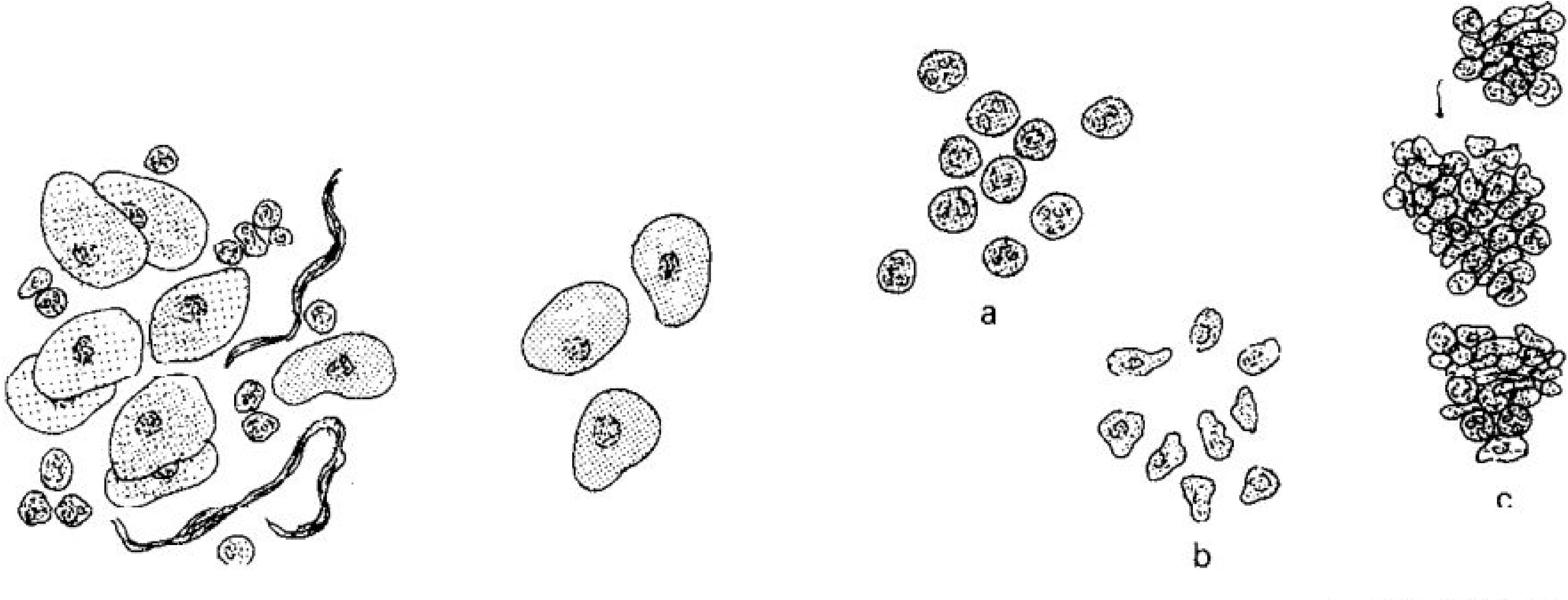
(a) سالِمَة: أقراص مُصْفَرَّة صغيرة، حوافيها أَقْتَمُ من مراكزها (8 مكم)؛

(b) مُفَرَّضَة: ذات حوافي شائكة وقُطْرُها أقل (5–6 مكم)؛

(ج) مُنْتَبِجة: دوائر رهيفة وقطرها مزداد (9–10 مكم).

كثيراً ما يتبدل شكل الكريات خلال اختزان البول فلا يكون له أهمية تشخيصية.

إن البول السوي يحتوي على عدد قليل جداً من الكريات الحمر.



الشكل 10.7. الكريات البيض:
a: كريات سالمة؛ b: كريات متنكسة؛ c: قيح.

الشكل 11.7. خلايا الحالب وحُوَيْضَة الكلية.

ملاحظة: يمكن أن توجد الكريات الحمر في أبوال النساء إذا كان النموذج قد أُخِذ في أثناء دورة الحَيْض.

الكريات البيضاء (الشكل 10.7)

يمكن أن تكون الكريات البيضاء الموجودة في البول:

(a) سالِمَة: أقراص رائقة حبيبية بقطر 10–15 مكم (ويمكن أن ترى نواها)؛

(b) مُتَنَكِّسَة: أشكال مُشَوَّهَة مُنْكَمِشَة وأقل تَحَبُّباً.

(c) قَيْح: لُزْنات (كتل) من خلايا مُتَنَكِّسَة عديدة.

إن وجود الكثير من الكريات البيض –ولا سيما إذا كانت بشكل لُزْنات– يدل على عدوى في السبيل البولي.

كيف يُعَبَّر عن كمية الكريات الحمر والبيض الموجودة في الرواسب البولية

توضع قطرة واحدة من الراسب البولي على شريحة مجهرية وتُسْتَر بساترة 20×20 مم.

باستخدام الشيئية 40× يفحص الراسب وتعد الكريات الحمر والبيض في كل ساحة مجهرية.

تُسَجَّل النتائج كما هو موصوف في الجدولين 3.7 و 4.7.

خلايا الحالب وحُوَيْضَة الكلية (الشكل 11.7)

خلايا بيضاوية متوسطة الحجم ذات نواة متميزة.

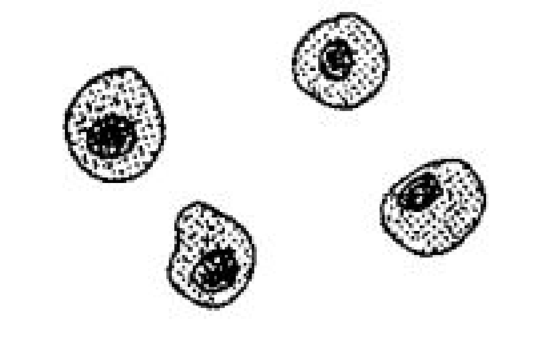
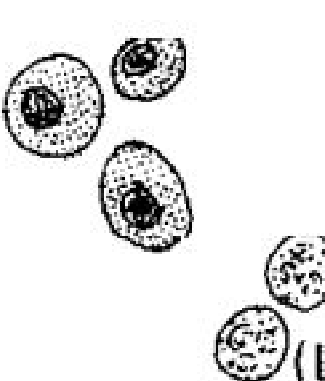
إذا وُجِد كثيرٌ منها مع الكريات البيض وبعض الخيوط فإنها يمكن أن تكون من الحالب، وإذا وُجِد قليلٌ منها دون كريات بيض فيمكن أن تكون خلايا آتية من الحَوَيْضَة.

الجدول 3.7. تسجيل نتائج الفحص المجهري للبول لتحري الكريات الحمر

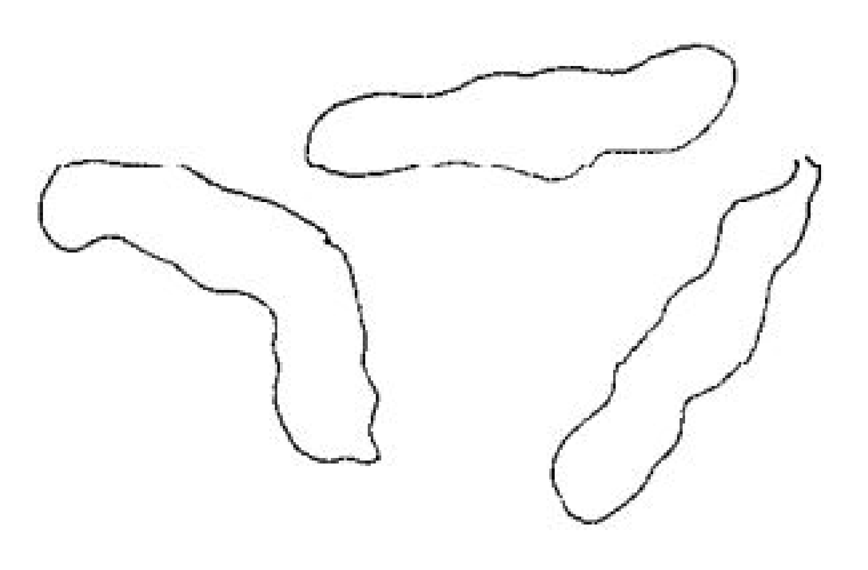
عدد الكريات الحمر في الساحة المجهرية	النتيجة
10–0	كريات حمر قليلة (سوي)
30–10	عدد معتدل من الكريات الحمر
30 <	كثير من الكريات الحمر

الجدول 4.7. تسجيل نتائج الفحص المجهري للبول لتحري الكريات البيض.

عدد الكريات البيض في الساحة المجهرية	النتيجة
10–0	كريات بيضاء قليلة (وهذا هو السوي)
20–10	عدد معتدل من الكريات البيضاء
30–20	كثير من الكريات البيضاء
20–30 كرية بيضاء متنكسة في لُزنات (أكوام)	كريات بيضاء كثيرة في لُزنات
> 30 كرية بيضاء متنكسة في لُزنات	الساحة مَلأى بالكريات القيحية

الشكل 12.7. الخلايا الكلوية.



الشكل 13.7. الأسطوانات الهيالينية.

الخلايا الكلوية (الشكل 12.7)

الخلايا الكلوية صغيرة، وهي بقد 1–2 كرية بيضاء، وتكون مُحَبَّبة جداً.

النواة كاسرة للضوء ومرئية بوضوح. وهذه الخلايا تكاد تكون مترافقة دائماً مع وجود البروتين في البول.

الأسطوانات

وهي أسطوانية الشكل وطويلة وتكاد تملأ الساحة عندما تُفحص بالشيئية 40×.

الأسطوانات الهَيالِينية وهي شفافة قليلة الكسر للضوء، ونهاياتها مُدَوَّرَة أو مُسْتَدِقَّة (الشكل 13.7).

ويمكن أن توجد في الأشخاص الأصحاء بعد الجهد العضلي الشاق.

الأسطوانات الحُبَيْبِيَّة هي أسطوانات قصيرة غالباً مملوءة بحبيبات كبيرة، وذات لون أصفر شاحب ونهايات مدورة (الشكل 14.7). تأتي الحبيبات من الخلايا الظِّهَارِيَّة المُتَنَكِّسَة من نُبَيْبات الكلية، وليس لها أهمية تشخيصية.

الأسطوانات الحبيبية الناعمة (الشكل 15.7) وهي ذات حُبَيْبَات أَنْعَم من السابقة ولا تملأ الأسطوانة بكاملها (a)، وينبغي أن لا تلتبس مع الأسطوانات الهيالينية المستورة جزئياً ببعض بلورات الفُسْفات العديمة الشكل (b).

الأسطوانات الدموية أسطوانات مملوءة قليلاً أو كثيراً بكريات حمر مُتَنَكِّسَة، وبنية اللون (الشكل 16.7)؛ وتوجد في المرض الكلوي الحاد.

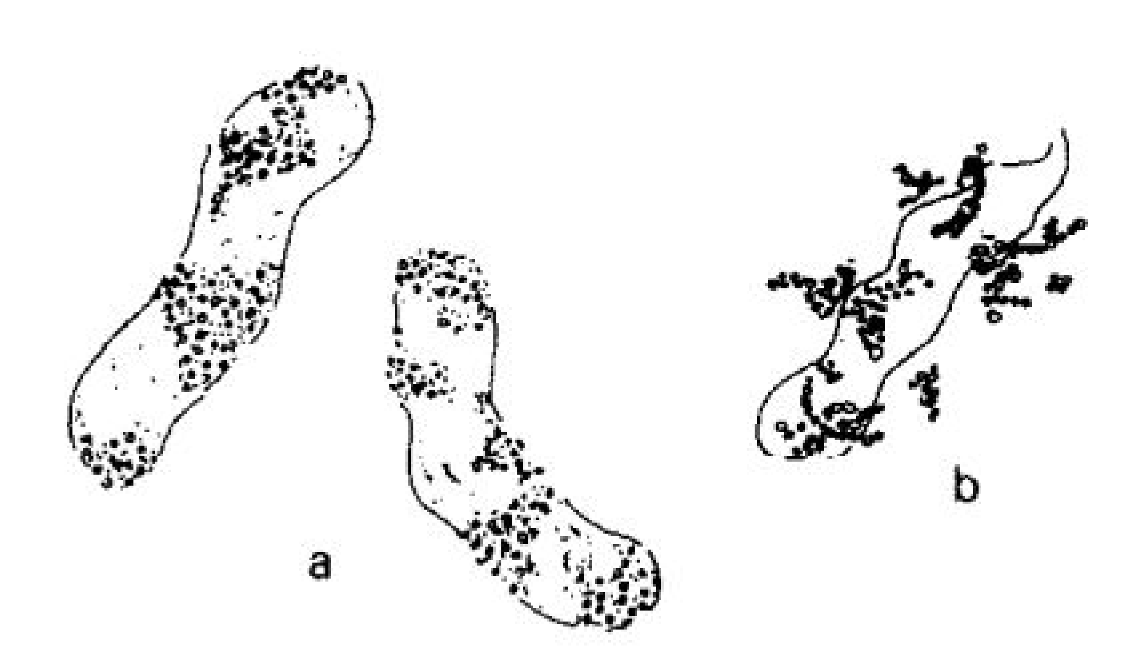


الشكل 14.7. الأسطوانات الحبيبية.

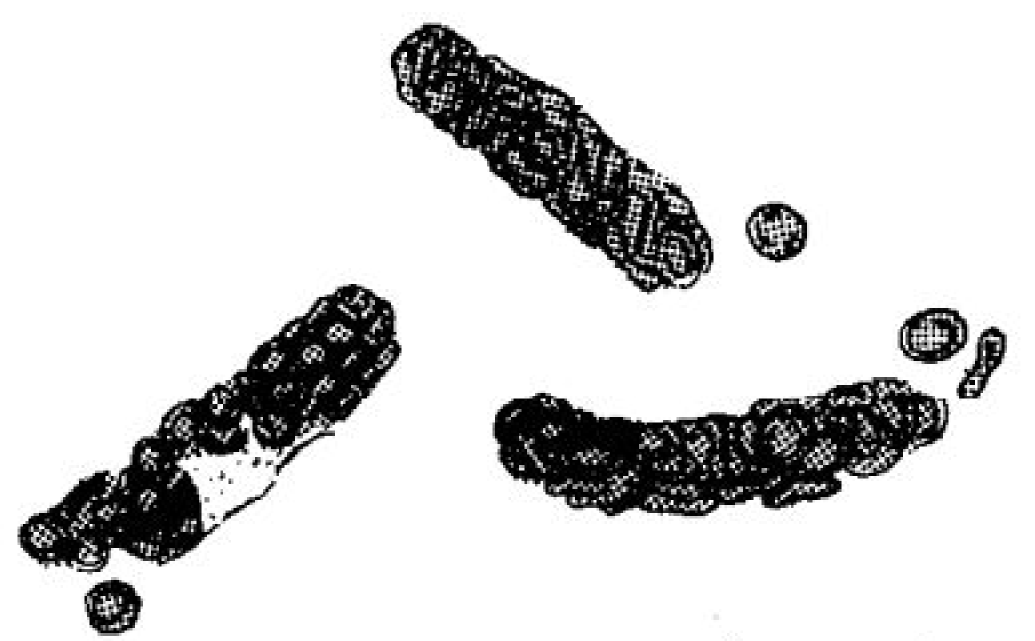
الأسطوانات القيحية (الشكل 17.7): تكون الأسطوانات القيحية الحقيقية مملوءة تماماً بالكريات البيض (a)، ويجب ألا تلتبس مع الأسطوانات الهيالينية التي يمكن أن تحتوي على بعض الكريات البيض (b). توجد الأسطوانات القيحية في المرضى الذين يعانون من عدوى كلوية.

الأسطوانات الظِّهَارِيَّة أسطوانات مملوءة بخلايا ظهارية صفراء شاحبة (الشكل 18.7)، وهي ليست بذات أهمية تشخيصية. [لجعل الخلايا أكثر وضوحاً تُضاف قطرة من حمض الأسيتيك 100 غ/ل (10%) (الكاشف رقم 2) إلى الراسب].

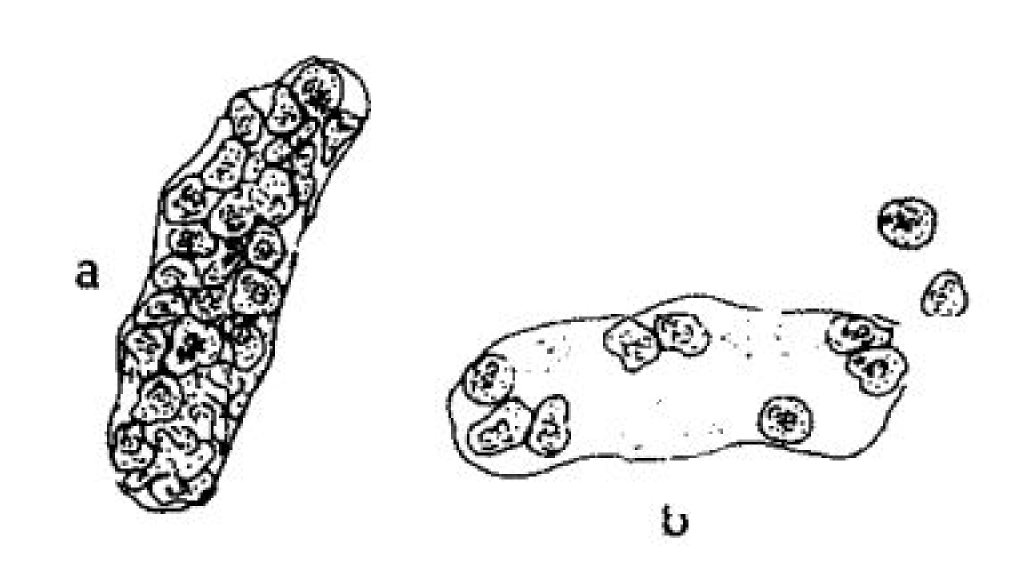
الأسطوانات الدُّهْنِيَّة نادرة وهي أسطوانات مُصْفَرَّة شديدة الكسر للضوء حوافيها مُسَنَّنَة ومتميزة ونهاياتها مُدَوَّرَة (الشكل 19.7). وهذه الأسطوانات الدهنية ذوابة في الأثير ولكنها لا تذوب في حمض الأسيتيك. وهي توجد في المرضى المصابين بالأمراض الكلوية الشديدة.



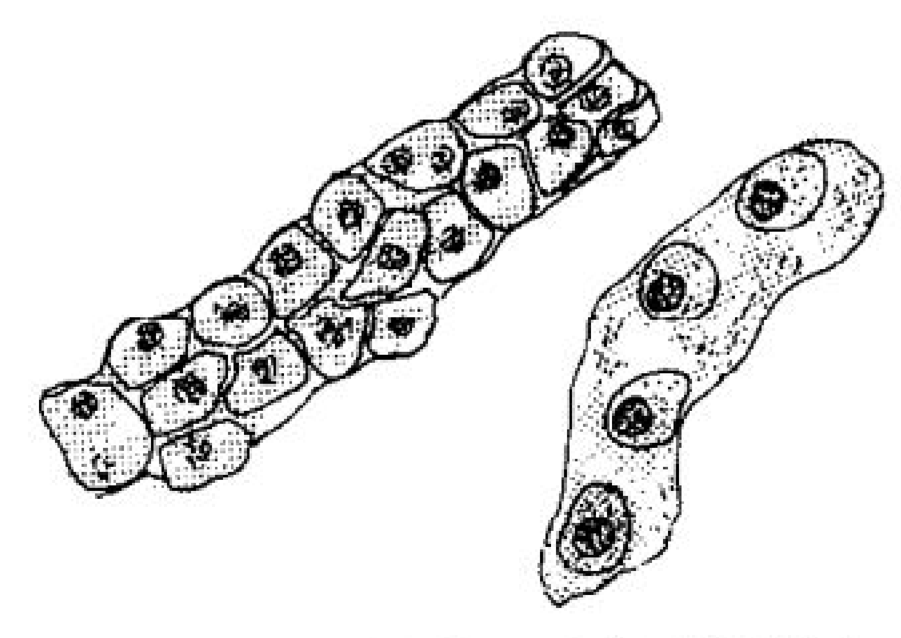
الشكل 15.7. الأسطوانات الحبيبية الناعمة: a: أسطوانات حبيبية ناعمة حقيقية؛
b: أسطوانات هيالينية مستورة جزئياً بلورات الفسفات العديمة الشكل.



الشكل 16.7. الأسطوانات الدموية.



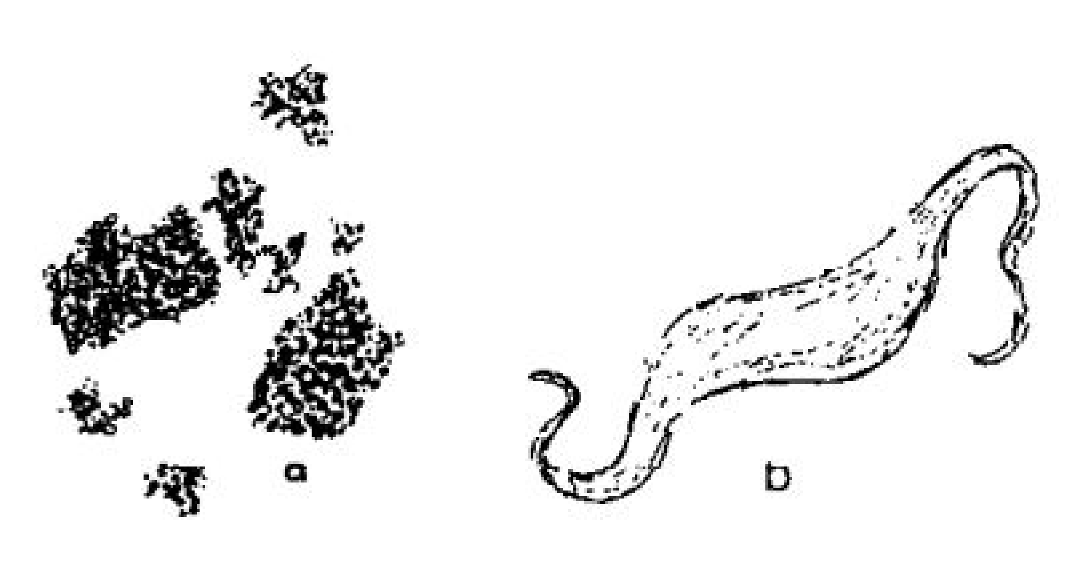
الشكل 17.7. الأسطوانات القيحية:
a: أسطوانات قيحية حقيقية؛ b: أسطوانات هيالينية.



الشكل 18.7. الأسطوانات الظهارية.



الشكل 19.7. الأسطوانات الدهنية.



الشكل 20.7. الأسطوانات الكاذبة:
a: بلورات الفسفات؛ b: المخاط الشاف.

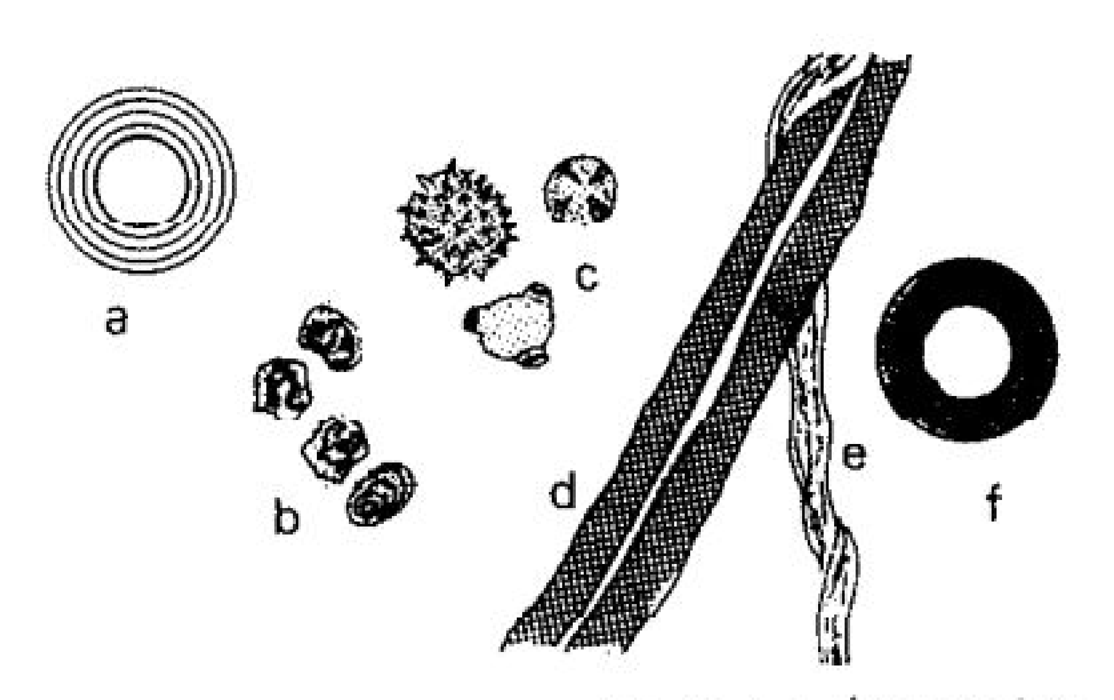
الأسطوانات الكاذبة (الشكل 20.7). يجب عدم الخلط بين الأسطوانات وبين:

– لُزَنات (كتل) من بلورات الفُسْفات القصيرة والواضحة الحدود (a).
– تَكَدُّسات من المُخاط الشّافّ، والتي تكون نهاياتها مُسْتَدِقَّة بشكل خيوط (b).

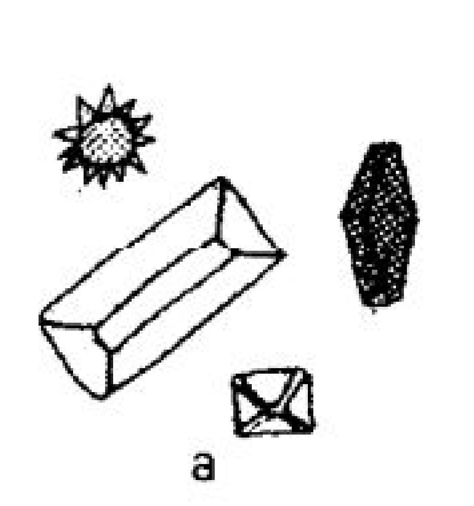
أجسام غريبة متفرقة

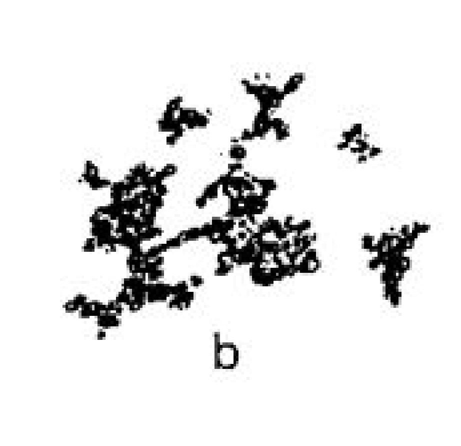
إذا استُعملت أوانٍ أو شرائح قَذِرَة أو تُرِك نموذج البول معرضاً للهواء، فيمكن أن نجد ما يلي (الشكل 21.7):

– قُطَيْرات الزيت (كاسرة للضوء) (a)؛
– حُبَيْبات النَّشا(تتلون باللون الأزرق المُسْوَدّ بمحلول لوغول اليودي (الكاشف رقم 37) (b)؛
– حَبّات الطَّلْع من الأزهار (c)،
– الأشعار (d)؛

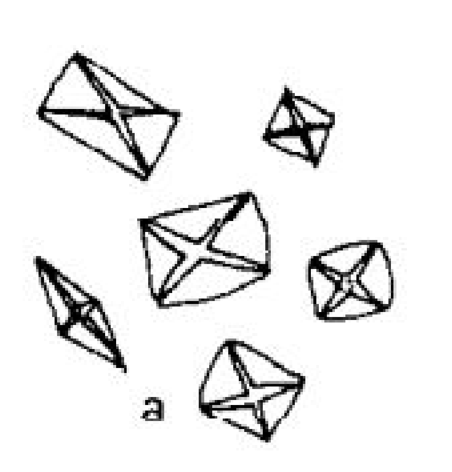


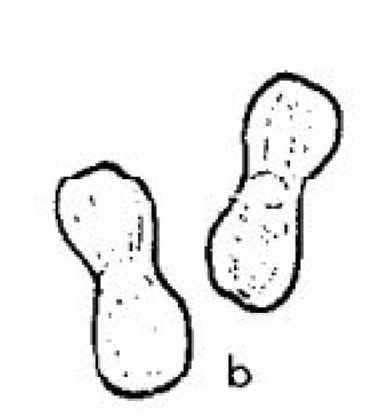
الشكل 21.7. أجسام غريبة متفرقة:
a: قطيرات الزيت؛ b: حبيبات النشا؛ c: حبات الطلع؛
d: الأشعار؛ e: ألياف القطن؛ f: فقاقيع الهواء.



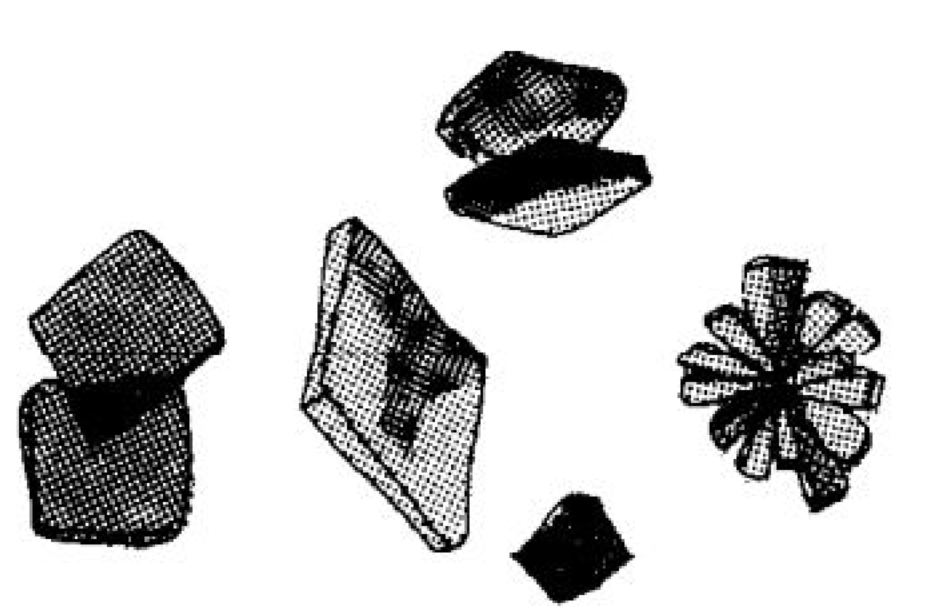


الشكل 22.7. البلورات:
a: بلورات؛ b: حطام عديم الشكل.





الشكل 23.7. بلورات أوكسالات الكالسيوم:
a: بلورات بشكل ظرف الرسالة؛ b: بلورات بشكل الفول السوداني.



الشكل 24.7. بلورات حمض اليوريك (حمض البول).

ألياف القطن (e)؛
– فقاقيع الهواء (f).

البِلّوْرات (الشكل 22.7)

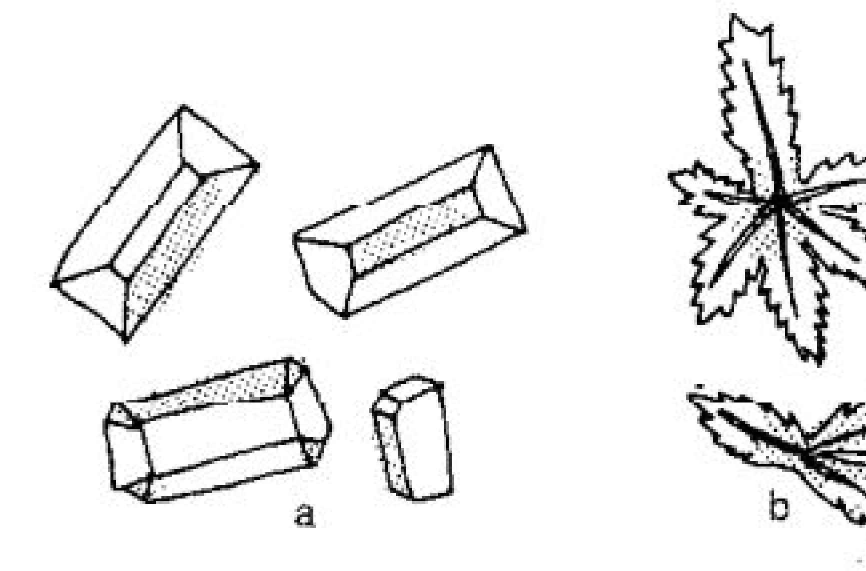
للبلورات أشكال هندسية منتظمة (a) خلافاً للحُطام العديم الشكل الذي يتألف من لُزنات (أكوام) من حُبَيْبات صغيرة ليس لها شكل مُحَدَّد (b). لا أهمية تشخيصية للبلورات في البول إلا في أمراض نادرة جداً.

الرواسب البلورية السوية

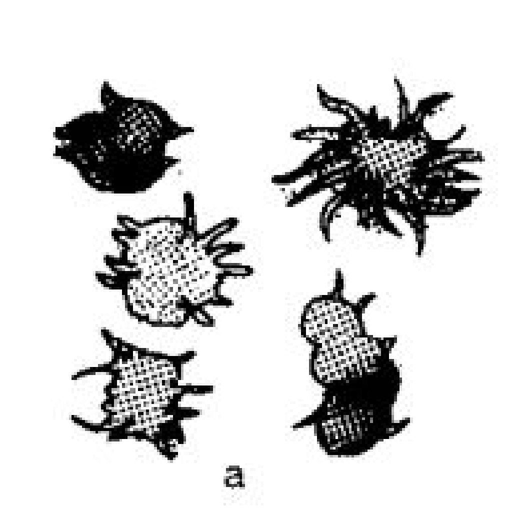
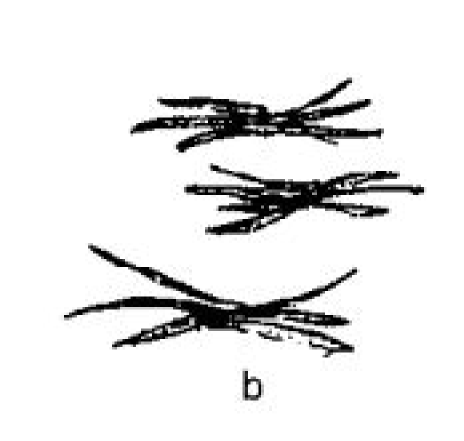
أوكسالات الكالسيوم (في البول الحمضي) (الشكل 23.7):
الحجم: 10–20 مكم (1–2 كرية حمراء) (a) أو حوالي 50 مكم (b).
الشكل: بشكل ظرف الرسالة (a) أو بشكل الفول السوداني (b).
اللون: عديمة اللون، كاسرة للضوء بشدة.

حمض اليوريك (في البول الحمضي) (الشكل 24.7):
الحجم: 30–150 مكم.
الشكل: مختلف (مربع، مُعيَّن، مُكَعَّب، أو كالزهرة).
اللون: أصفر أو أحمر بني.

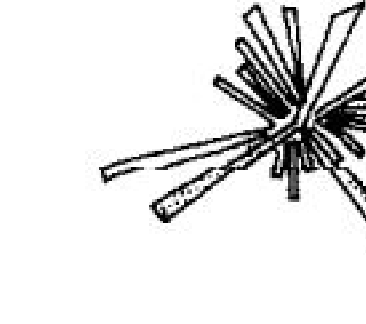
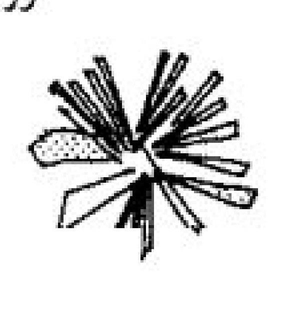
الفُسفات الثلاثية (في البول المُتعادِل أو القلوي) (الشكل 25.7):
الحجم: 30–150 مكم.
الشكل: مستطيل (a) أو بشكل ورقة السرخس أو النجمة (b).
اللون: عديمة اللون، كاسرة للضوء.



الشكل 25.7. بلورات الفسفات الثلاثية:
a: بلورات بشكل المستطيل؛ b: بلورات بشكل ورقة السرخس.

الشكل 26.7. بلورات اليورات (البولات).
a: بلورات بشكل الصبار؛ b: بلورات بشكل الإبر.

الشكل 27.7. بلورات فسفات الكالسيوم.

الشكل 28.7. بلورات كربونات الكالسيوم.

اليورات (البولات؛ في البول القلوي) (الشكل 26.7):
الحجم: حوالي 20 مكم.
الشكل: بشكل الصبّار (a) أو حزمة من الإبر (b).
اللون: صفراء، كاسرة للضوء.
توجد غالباً مع الفُسْفات.

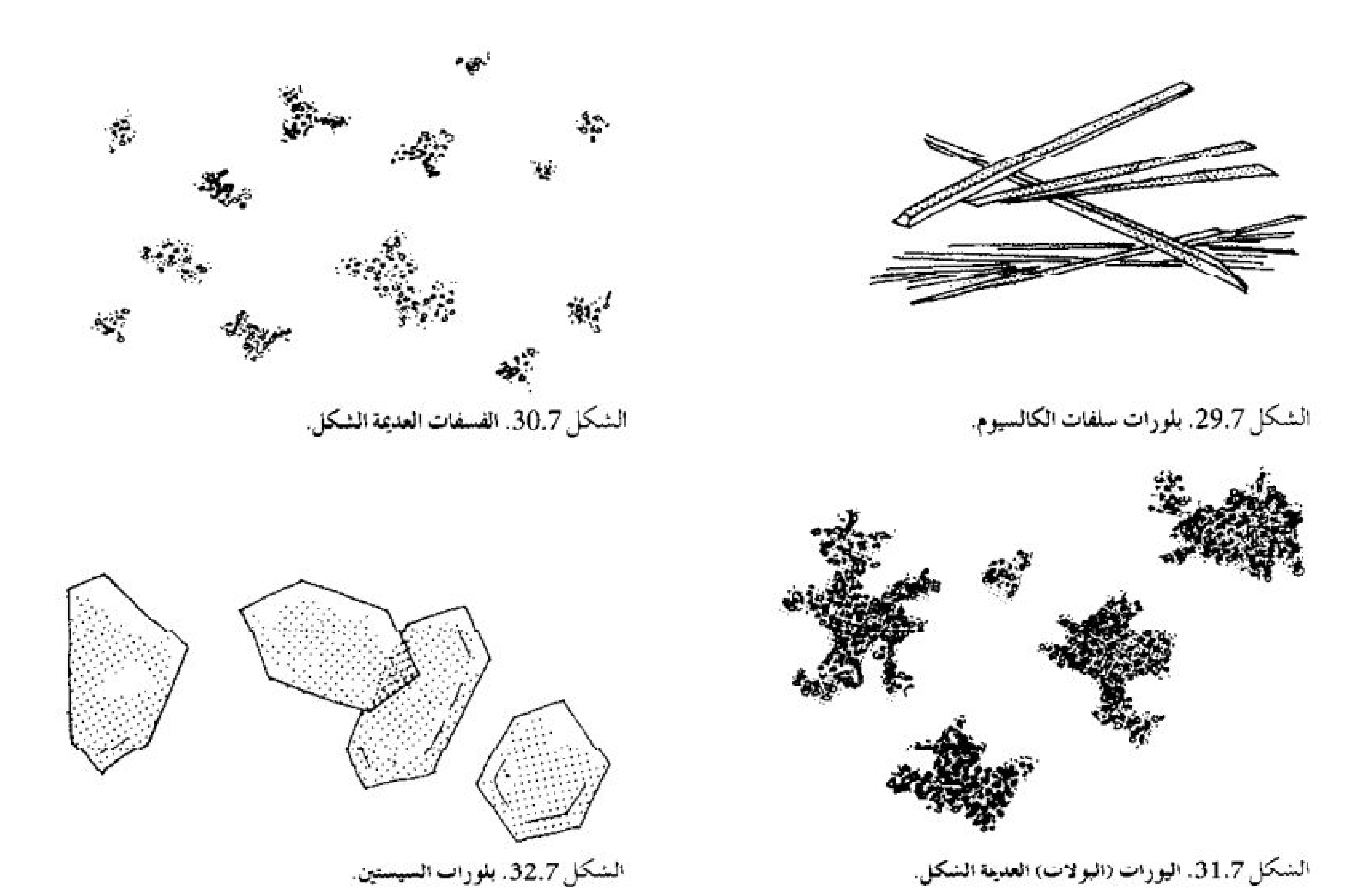
فُسْفات الكالسيوم (في البول المتعادل أو القلوي) (الشكل 27.7):
الحجم: 30–40 مكم.
الشكل: تشبه نجمة.
اللون: عديمة اللون.

كَرْبونات الكالسيوم (في البول المتعادل أو القلوي) (الشكل 28.7):
الحجم: صغيرة جداً.
الشكل: تشبه حبّات الدُّخن أو الذُّرَة، مُجَمَّعَة أزواجاً.
اللون: عديمة اللون.
إذا أُضيف محلول حمض الأسيتيك 10% (الكاشف رقم 2) فإن البلورات تذوب مطلقةً فقاقيع من الغاز.

سَلْفات الكالسيوم (في البول الحمضي) (الشكل 29.7):
الحجم: 50 100 مكم.
الشكل: مَواشير طويلة أو نِصَال مُبَسَّطَة، منفصلة أو بشكل رُزَم.
يمكن تمييز بلورات سلفات الكالسيوم من بلورات فُسْفات الكالسيوم بقياس باهاء pH البول.

الحُطام العديم الشكل

الفُسْفات العديمة الشكل (في البول القلوي) (الشكل 30.7):
تبدو الفُسْفات العديمة الشكل كحُبَيْبات صغيرة بيضاء، ومُبَعْثَرَة غالباً.



الشكل 29.7. بلورات سلفات الكالسيوم.

الشكل 30.7. الفسفات العديمة الشكل.

الشكل 31.7. اليورات (البولات) العديمة الشكل.

الشكل 32.7. بلورات السيستين.

وهي ذَوَّابَة في محلول حمض الأسيتيك 10% (الكاشف رقم 2) (قطرة منه لكل قطرة من الراسب).

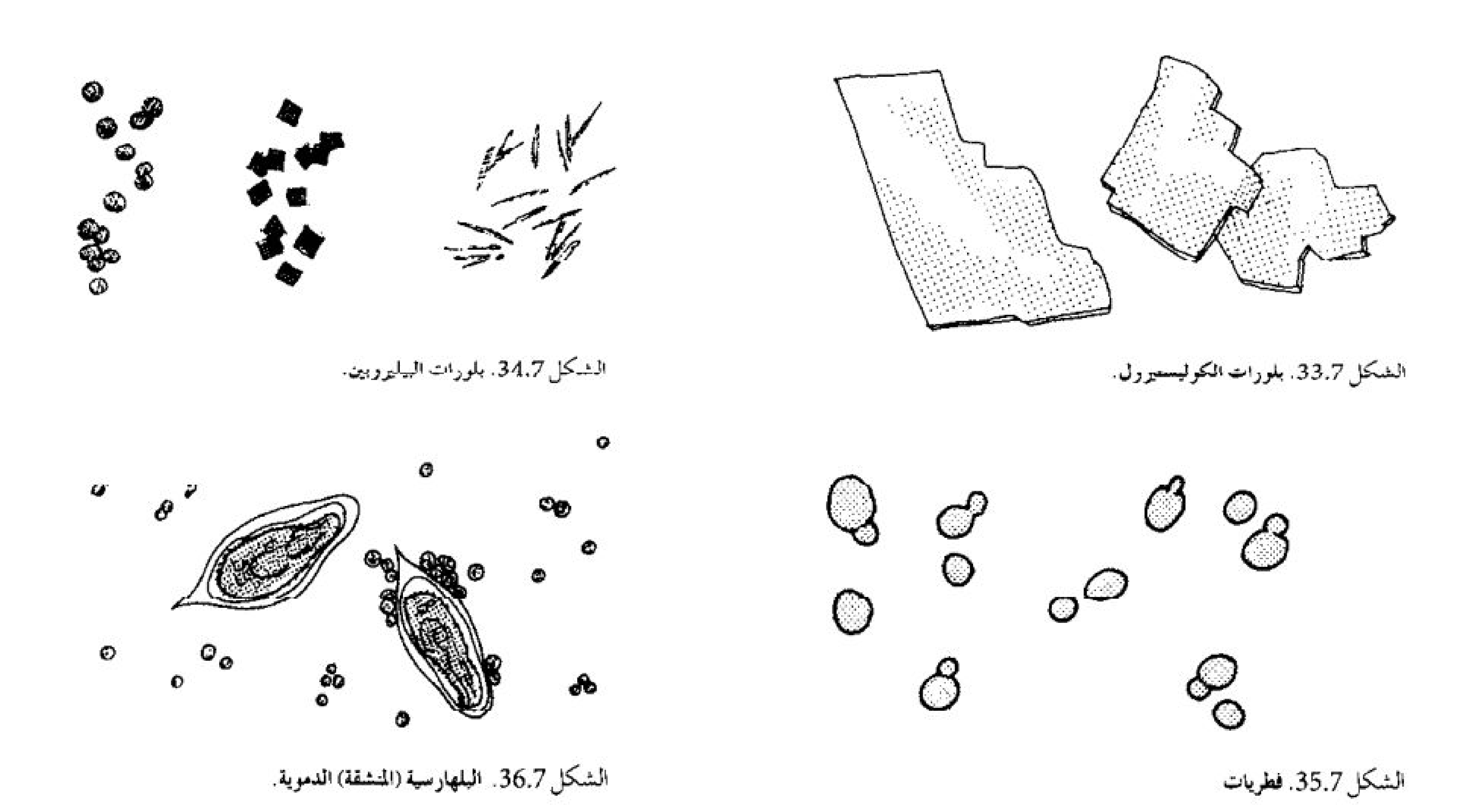
اليورات العديمة الشكل (في البول الحمضي) (الشكل 31.7):
تبدو اليورات العديمة الشكل كحُبَيْبات صغيرة جداً مُصْفَرَّة اللون مُجَمَّعَة في أكوام مُكْتَنِزَة.
وهي غير ذَوَّابَة في محلول حمض الأسيتيك 10% (الكاشف رقم 2)، ولكنها تذوب إذا سُخِّن البول بلطف.
(إن البول المحفوظ في الثلاجة كثيراً ما يُبْدي رُسابَة كثيفة من اليورات).

الرواسب البلورية الأُخرى

نادراً ما تُكْتَشَف الرواسب البلورية التالية في البول، على أنها إذا وُجِدَت فإنها توجد بكميات كبيرة لدى مرضى مصابين بأمراض مُحدَدَة.

السيستين (في البول الحمضي) (الشكل 32.7):
الحجم: 30–60 مكم.
الشكل: صفائح مُسَدَّسِيَّة.
اللون: عديمة اللون كاسرة للضوء بشدة.
توجد بلورات السيستين في البول الطازج فقط لأنها تذوب في الأمونيا.
وتُصادف في المرضى المصابين بالبيلة السيستينية (مرض وراثي نادر جداً).

الكوليسترول (في البول الحمضي) (الشكل 33.7):
الحجم: 50–100 مكم.
الشكل: صفائح مُرَبَّعَة ذات ثُلَم على جانب واحد.
اللون: عديمة اللون كاسرة للضوء.
توجد بلورات الكوليسترول في بول مرضى المتلازمة الكُلائِيَّة.



الشكل 33.7. بلورات الكوليستيرول.

الشكل 34.7. بلورات البيليروبين.

الشكل 35.7. فطريات

الشكل 36.7. البلهارسية (المنشقة) الدموية.

البيليروبين (نادر جداً) (الشكل 34.7):

الحجم: حوالي 5 مكم.

الشكل: مُرَبَّعة أو كالخَرَز أو الإبر.

اللون: بني.

(الاختبار الكيميائي للأصبغة الصفراوية إيجابي).

مركبات أسيتيل السُّلْفوناميد (في البول المتعادل أو الحمضي):

الشكل: مختلف ولكن معظمها يكون بشكل حِزَم من الإبر.

توجد بلورات أسيتيل السُّلْفوناميد في البول بعد المعالجة بالأدوية السلفوناميدية. يجب أن يُذْكَر وجود هذه البلورات في التقرير لأنها يمكن أن تسبب تَضَرُّر الكلى.

الفُطْرِيّات (الشكل 35.7)

الحجم: 5–12 مكم.

الشكل: أجسام مدورة أو بيضاوية ذات حجوم متفاوتة توجد معاً، وينبغي عدم الخلط بينها وبين الكريات الحمر؛ ويمكن أن يُرى تَبَرْعُم؛ وهي لا تذوب في حمض الأسيتيك.

تكون الفطريات موجودة أحياناً في البول المحتوي على الغلوكوز، فيجب التحقق من أن البول طازج.

بيوض الطفيليات ويرقاتها

يمكن أن يوجد ما يلي:

- بيوض البِلْهارْسِيَّة الدموية: تتواجد مع الكريات الحمر (الشكل 36.7)؛
- مِكْروفيلارِيَّة الفُخَرِيَّة البَنْكروفتية: يبدو البول أبيض وعَكِراً (الشكل 121.4)

8.2.7 تشخيص عدوى البلهارسية (المنشقات) الدموية

في البلدان التي يكون فيها داء البلهارسيات (المنشقات) مُتَوَطِّناً تُفحص نماذج البول لتحري بيوض البلهارسية (المنشقة) الدموية. ويمكن أن تُرى أيضاً أتاريف المُشَعَّرَة المهبلية، وكذلك قد توجد مكروفيلاريات الفُخْرِيَّة البنكروفتية وكُلَّابيَّة الذَّنَب المُتَلَوِّيَة في الثُّفالَة المُنَبَذَة للبول المأخوذ من مرضى البلدان التي يكون فيها داء الفيلاريات متوطناً.

إن البَيِّنات اللامباشرة الأولى لعدوى البلهارسية الدموية هما البيلة الدموية و/أو البيلة البروتينية اللتان يمكن كشفهما باستعمال غميسة للبول (الفقرة 2.2.7)؛ وتدل البيلة الدموية العيانية على العدوى الشديدة.

تُستعمل طريقتان لكشف بيوض البلهارسية الدموية هما التثفيل والترشيح: طريقة التثفيل أقل حساسية ولكنها أرخص وأسهل إجراءً، وتُستعمل طريقة الترشيح عندما تكون المعلومات الكمية ضرورية لأغراض التَّرَصُّد الوبائي.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- ساترات
- مِنْبَذَة (طريقة التثفيل)
- أنبوب تنبيذ مخروطي سعة 15 مل (طريقة التثفيل)
- حامل مرشح بقطر 13 أو 25 مم (طريقة الترشيح)
- مرشح غشائي قياس ثقوبه 12–20 مكم (من النايلون أو البولي كربونات) أو ورق ترشيح واتمان رقم 541 (أو ما يماثله) (طريقة الترشيح)
- حوجلة مخروطية لجمع البول
- مِمَصّ باستور (طريقة التثفيل)
- محاقن بلاستيكية سعة 10 مل (طريقة الترشيح)
- محلول لوغول اليودي 0.5% (الكاشف رقم 37)(طريقة الترشيح)
- محلول فورمالدهيد 37%

الطريقة

جمع نماذج البول

يختلف عدد البيوض في البول خلال أوقات اليوم فهو أعلى ما يكون في البول المحصول عليه بين الساعة 10 و 14؛ ولذلك يجب جمع النموذج بين هذين الوقتين ويجب أن يشتمل على نموذج بولي انتهائي واحد (الفقرة 1.1.7) بحجم 10 مل على الأقل، ويمكن بدلاً من ذلك جمع البول الانتهائي لكل تبول خلال فترة 24 ساعة (الفقرة 1.1.7).

يجب أن يُفحص النموذج بكامله إذ يمكن أن تكون البيوض ضئيلةً جداً، ويُطلب من المريض أن يجمع البول في حوجلة أو قارورة نظيفة، ويُفحص النموذج حالاً.

إذا لم يكن فحص البول ممكناً خلال ساعة أو أكثر، يُضاف 1 مل من الفورمالين غير المُخَفف (محلول الفورمالدهيد 37%) إلى كل 100 مل من البول وهذا يحفظ أي بيوض قد تكون موجودة

ملاحظة: إذا لم يكن الفورمالين متوافراً فيمكن إضافة 2 مل من القاصر المبيض المنزلي الاعتيادي إلى كل 100 مل من البول.

تحذير: الفورمالين المادة المبيضة أو القاصرة كاويان ويجب تجنب ابتلاعهما.



الشكل 37.7. سحب البول إلى داخل المحقنة.

طريقة التثفيل

1. يُرج نموذج البول جيداً ويُسكب في الحوجلة المخروطية.
2. يُترك البول ليتثفل لمدة ساعة واحدة، ثم يُرفع الطافي وتُنقل الثُّفالَة إلى أنبوب تنبيذ يُنَبَّذُ بقوة نابذة 2000 جاذبية لمدة دقيقتين.
3. يُفحص الراسب لتحري وجود البيوض.

يجب عدم زيادة زمن التنبيذ وعدم تجاوز القوة النابذة 2000 جاذبية إذ أن ذلك قد يمرق البيوض ويُطلق الطُّفَيْلات miracidia.

ملاحظة هامة:

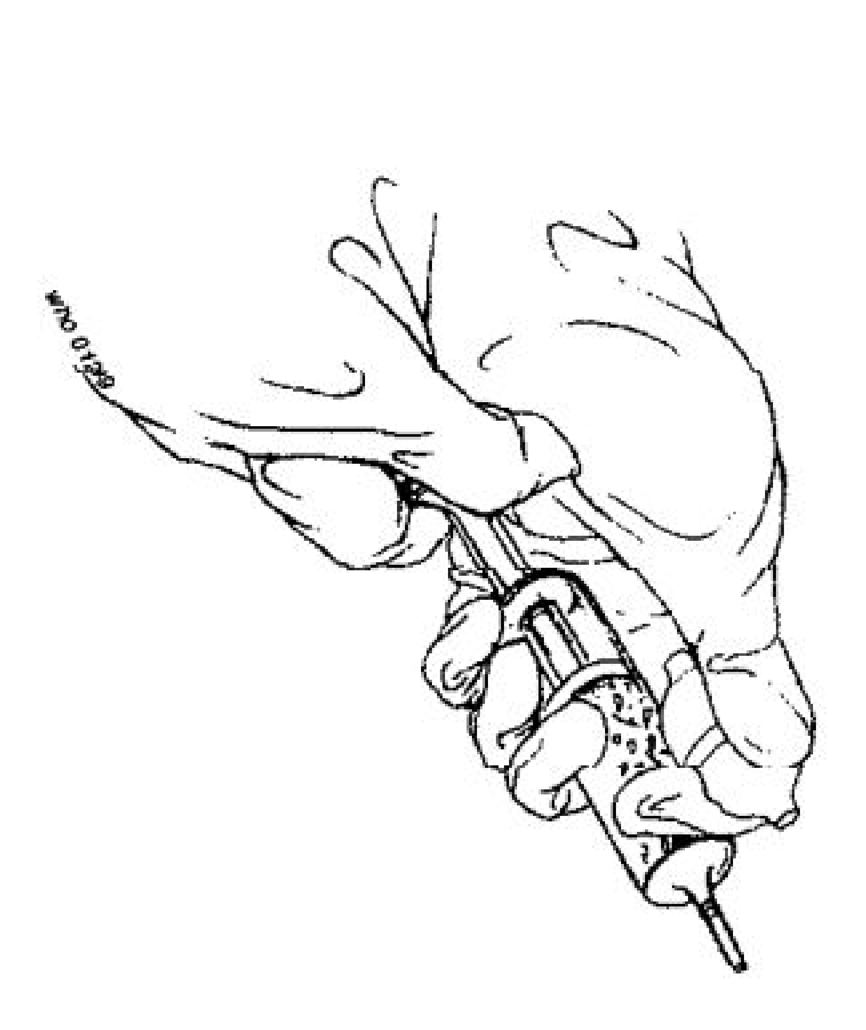
- يُعامل النموذج بأسرع مايمكن؛
- يُرج الوعاء قبل أن يُسكب نموذج البول في الحوجلة المخروطية؛
- تُعَنْوَن الشرائح و الأنابيب بعناية.

طريقة الترشيح

1. يوضع مرشح في حامل المرشح.
2. تُخض عينة البول بلطف. يُسحب 10 مل من البول إلى داخل المحقنة (الشكل 37.7) ويوصل حامل المرشح بالمحقنة.
3. يُمَجّ البول من المحقنة عبر حامل المرشح فوق دلو أو مغسلة (الشكل 38.7).
4. يُنزع حامل المرشح بعناية، ويُسحب الهواء إلى المحقنة (الشكل 39.7)، ثم يُعاد وصل المحقنة بالحامل ويُطرد الهواء (الشكل 40.7).



الشكل 38.7. طرد البول عبر حامل المرشح.

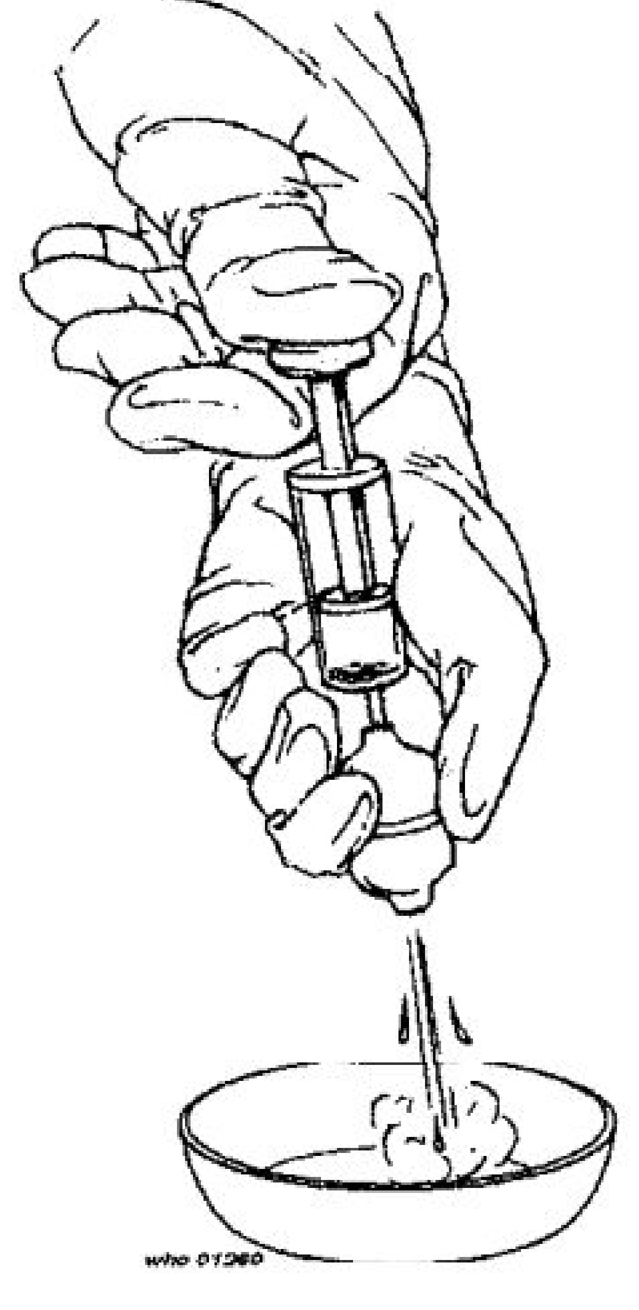


الشكل 39.7. سحب الهواء إلى المحقنة.

5. يُنزع حامل المرشح، ثم يُرفع المرشح بالملقط، ويوضع مرشح النايلون أو ورقة الترشيح والوجه العلوي إلى الأعلى (أو مرشح متعدد الكربونات والوجه العلوي إلى الأسفل) فوق شريحة مجهرية.
6. تُضاف قطرة واحدة من محلول لوغول اليودي لتحسين رؤية البيوض.
7. يُفحص المرشح بكامله تحت المجهر بتكبير منخفض (10× أو 40×)؛ وتُسجل النتائج باعتبارها عدد البيوض في 10 مل من البول.

إعادة استعمال المُرَشِّحات

إذا استُعمل مرشح بلاستيكي يُنزع فوراً بعد الاستعمال ويُنقع طوال الليل في محلول هيبوكلوريت 1% (قاصر منزلي)، وبعد النقع يُغسل جيداً بمحلول منظف ثم يُغسل بالماء النظيف عدة مرات. يُفحص المرشح بدقة تحت المجهر لضمان كونه خالياً من الطفيليات قبل إعادة استعماله.



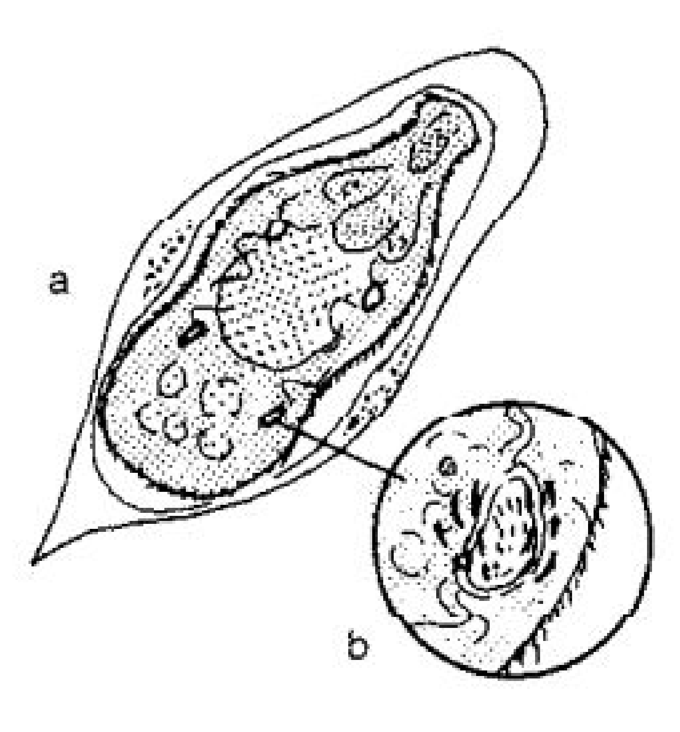
الشكل 40.7. طرد الهواء من المحقنة.

الفحص المجهري

تكون بيوض البلهارسية الدموية كبيرة وبطول حوالي 120–150 مكم، وذات مهماز انتهائي في إحدى النهايتين (الشكل 41.7 (a))؛ ويمكن رؤية جنين (الطُفَيْل miracidium) داخل البيضة.

من الضروري أحياناً تحديد ما إذا كانت البيوض عَيُوشَة، ويمكن أن يُجرى هذا إذا كان النموذج طازجاً و لم تتم إضافة حَوافِظ إليه.

تُفحص البيوض بعناية لرؤية ما إذا كانت الأجنة تتحرك، فهذا أفضل دليل على العَيُوشِيَّة؛ فإذا لم تُشاهد أي حركة يُبْحث عن "الخلايا اللَّهَبِيَّة" (الشكل 41.7 (b)) حيث توجد 4 خلايا لهبية واحدة في كل زاوية من زوايا الجنين، وتُستعمل الشيئية 100× مع إنقاص الإضاءة قليلاً للبحث عن الحركة السريعة للأهداب (أشعار قصيرة) في الخلايا اللهبية.



الشكل 41.7. البلهارسية (المنشقة) الدموية. a: الطفيل؛ b: الخلايا اللهبية.

تسجيل النتائج

عند استعمال طريقة الترشيح بالمحقنة يمكن أن تُسجل النتائج تبعاً لفئات تعداد البيوض:

عدوى خفيفة: 1–49 بيضة في 10 مل من البول.

عدوى شديدة: أكثر من 50 بيضة في 10 مل من البول.

إن فئة ثالثة مثل أكثر من 500 بيضة في 10 مل من البول أو أكثر من 1000 بيضة في 10 مل من البول، يمكن أن تكون ملائمة في المناطق التي تصل فيها شدة العدوى بشكل متواتر إلى هذا المستوى (أعني في أكثر من 10% من الحالات).

9.2.7 كشف الجراثيم

لا يحتوي البول عملياً في الأشخاص الأصحاء على أي كائن حي، ويمكن أن توجد الجراثيم في المرضى المصابين بعدوى في جزء ما من السبيل البولي (مثل: التهاب الإحليل، أو التهاب المثانة، أو التهاب الكلية)، أو عندما تُفْرَغ في البول جراثيم آتية من عدوى في مكان آخر من الجسم.

يُنَبَّذ البول بسرعة عالية ويُفحص الراسب الناتج بالمجهر (كما هو مذكور في الفقرة 7.2.7)، وهذا هو الجزء الأهم من التحليل، على أن الراسب يمكن أن يُستعمل أيضاً لعمل لطاخات تُلَوَّن بملوني غرام وتسيل – نلسن وتُفحص بالمجهر.

ويبقى الزرع ضرورياً دائماً لتعيين هوية الجراثيم المكتشفة بدقة وتقدير الكمية الموجودة منها.

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية.
- حَوْجَلَة إيرلنماير معقمة، سعتها 250 مل وذات سدادة.
- مِنْبَذَة.
- أنابيب تنبيذ مخروطية معقمة ، وذوات سدادات.
- غانَة (عروة) للتلقيح.
- مِلْهَب بَنْزِن أو مِصْباح كحولي.
- محلول الإيثانول 70%.

- الكواشف اللازمة لتلوين غرام (الفقرة 1.3.5) وتلوين تسيل ـ نلسن (الفقرة 3.3.5) .

الطريقة

أخذ نماذج البول

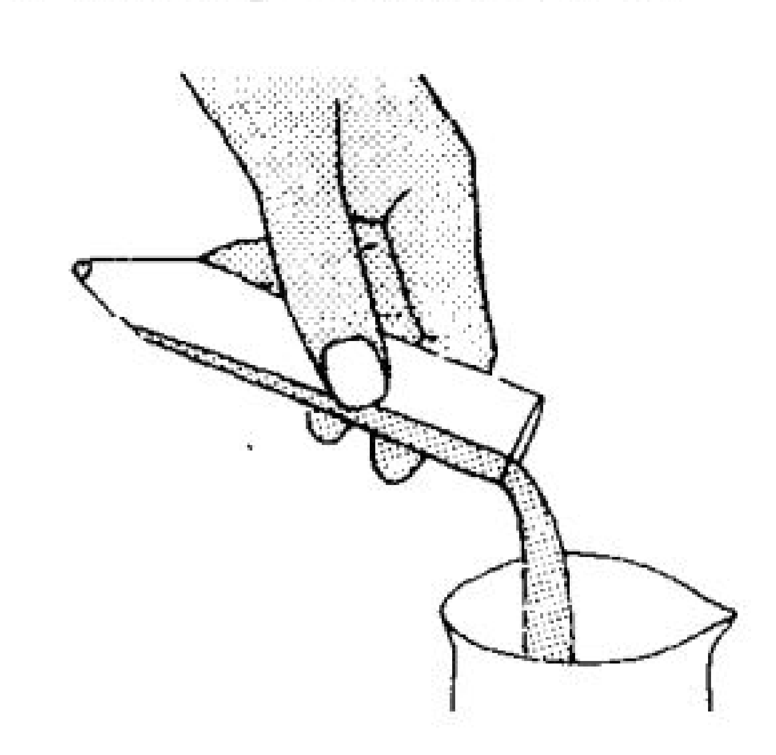
يجب تنظيف الأعضاء التناسليه قبل كل شيء باستعمال الماء والصابون. يؤخذ نموذج منتصف الجريان (منتصف البيلة) (الفقرة 1.1.7) في حوجلة معقمة، ويُفحص بأسرع ما يمكن (ويمكن بدلاً من ذلك أن يؤخذ البول في أنبوب مخروطي مشطوف بالماء الغالي فقط ثم يُفحص مباشرة).

تحضير الشرائح

1. يصب في أنبوب تنبيذ معقم 10 مل من البول الطازج ويسد إما بغطاء مُلَوْلَب أو بسدادة من القطن المُعَقَّم مُثَبَّتَة بالشاش ومربوطة بخيط.
2. يُنَبَّذ النموذج بقوة نابذة 1500 جاذبية لمدة 10 دقائق. في حال الاشتباه بالسل ينبذ مقدار 10 مل آخر من النموذج بقوة 5000 جاذبية لمدة 20 دقيقة.
3. يُراق البول الطافي من الأنبوبين (الشكل 42.7). يُمزج الراسب باستعمال غانة (عروة) التلقيح (بعد تعقيمها بالتلهيب) (الشكل 43.7) إلى أن يتشكل مُعَلَّق مُتجانس.

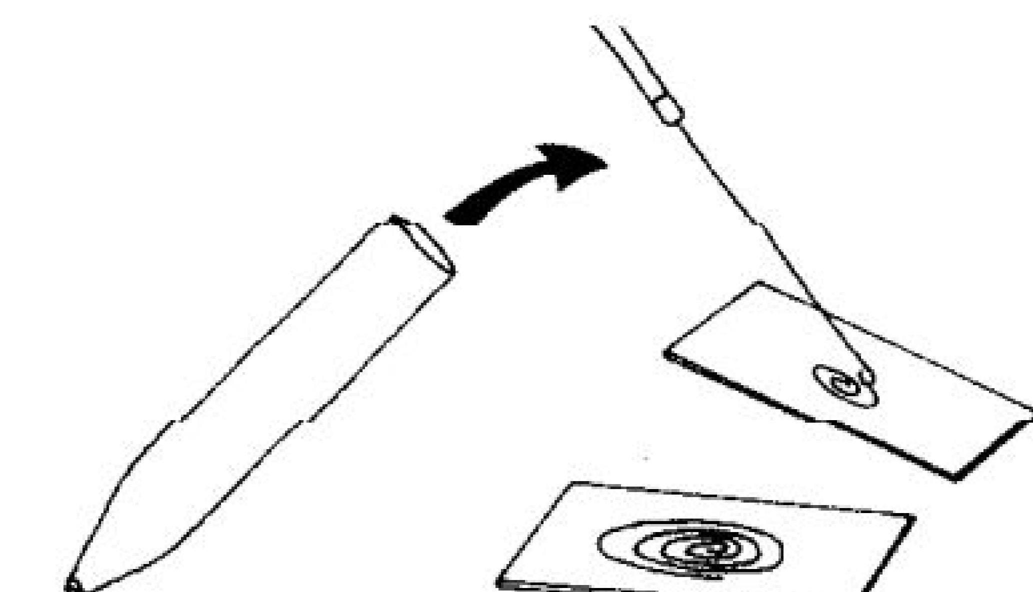


الشكل 43.7. مزج الراسب البولي.



الشكل 42.7. إراقة البول الطافي.

4. باستخدام غانة (عروة) التلقيح (المعقمة بالتلهيب) تُعْمَل لطاختان من كل من المعلقين (الشكل 44.7)، وتُترك الشريحتان لتجفّا بالهواء.
5. تُثَبَّت الشريحتان بغمرهما بالإيثانول وإشعاله أو بالتسخين فحسب.
6. تُلَوَّن الشريحة 1 بملون غرام (الفقرة 1.3.5) والشريحة 2 بملون تسيل—نلسن (الفقرة 3.3.5).



الشكل 44.7. تحضير اللطاخات من الراسب البولي.

الفحص المجهري

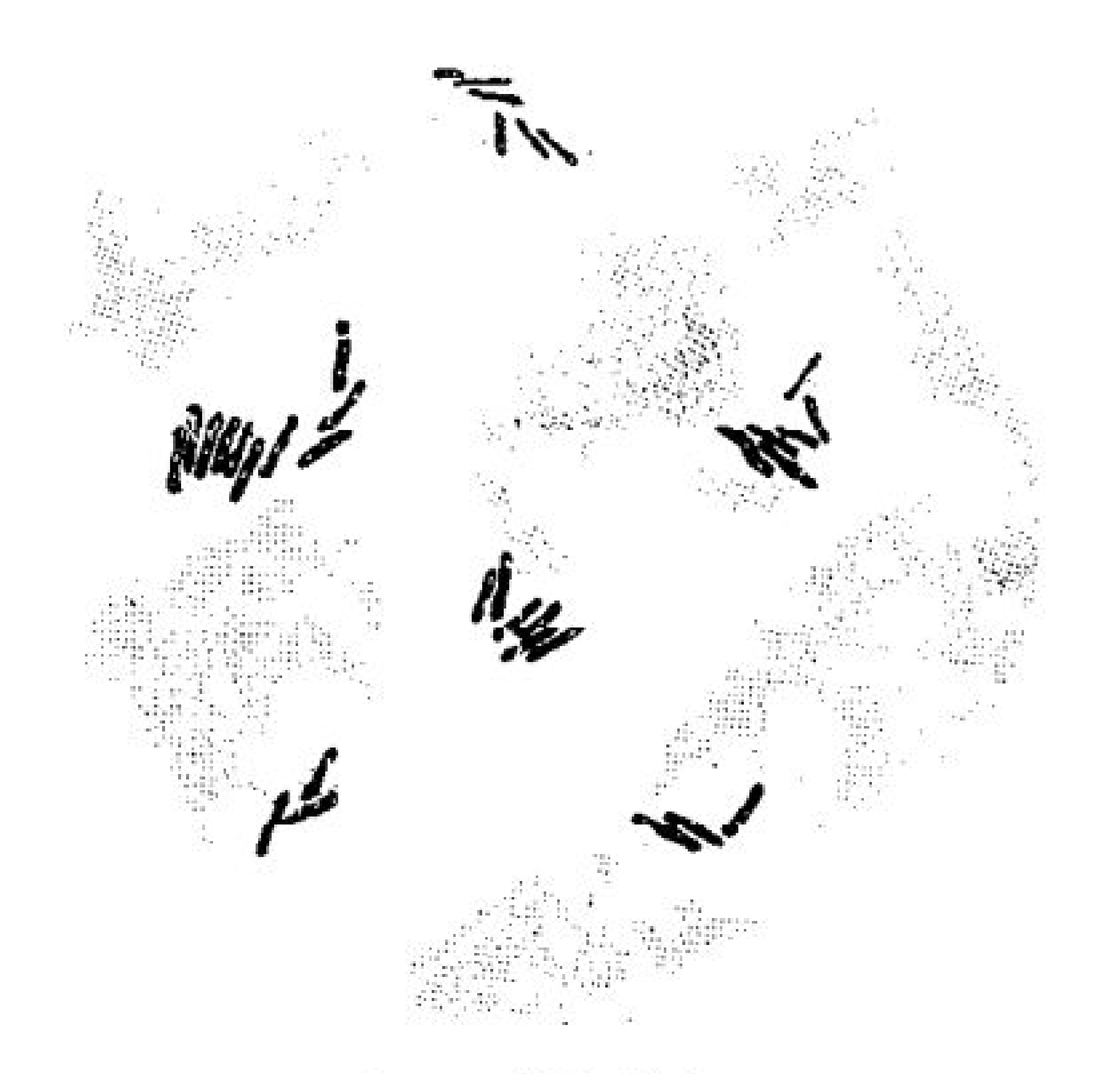
تُفحص الشريحتان بالمجهر باستعمال الشيئية الغاطسة 100×.

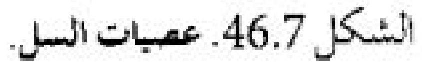
تفحص الشريحة الملونة بملون غرام للبحث عما يلي (الفقرة 1.3.5)

- القيح (كريات بيضاء كثيرة تتلون باللون الأحمر بملون غرام).
- عصيات سلبية الغرام (الشكل 45.7 a)؛
- مكورات إيجابية الغرام (الشكل 45.7 b)؛
- عصيات إيجابية الغرام شبيهة بالخُنَاقِيَّة diphtheroid (الشكل 45.7 c)
- فُطْرِيَّات إيجابية الغرام (الشكل 45.7 d)



الشكل 45.7. **الفحص الباكتريولوجي للبول:**
a: عصيات سلبية الغرام؛ b: مكورات إيجابية الغرام؛
c: عصيات إيجابية الغرام شبه الخناقية؛ d: فطريات إيجابية الغرام.




الشكل 46.7. **عصيات السل.**

تُفحص الشريحة الملونة بملون تسيل ـ نلسن لتحري عصيات السل. تبدو العصيات بلون أحمر قاتم، وتكون مُنْتَظِمَة في صفوف (الشكل 46.7).

تسجيل النتائج
يُذْكَر في النتيجة وجود كريات بيض أو قيح أو عدم وجودهما، ويُعْطى وصف دقيق للأحياء الموجودة.

مثال
الأحياء الموجودة:
– كريات بيض كثيرة
– قليل من الكريات الحمر
– قليل من الخلايا الظهارية
– مكورات إيجابية الغرام، كثيرة، في أكوام.

أو

الأحياء الموجودة:
– كريات بيض قليلة
– كريات حمر نادرة
– قليل من الخلايا الظهارية
– قليل من العصيات السلبية الغرام.

المكورات البنية

لا يجوز تشخيص عدوى بالمكورات البنية بالاستناد إلى فحص الراسب البولي، وإنما يُبْحث عن المكورات البنية في قيح الإحليل (الفقرة 5.5).

غَمائِس البول

يمكن أن تُكشف الجراثيم في البول أيضاً باستعمال غمائس البول (الفقرة 2.2.7)؛ وتتوافر تجارياً غَميسَة ذات كواشف لكشف النّترات (التي تُنْتِجُها بعض الجراثيم المُمْرِضَة) وإستيراز الكرية البيضاء، وقد أبدت هذه الغميسة نوعيةً وحساسيةً مرتفعتين لكشف الجراثيم في البول.

زروع البول

تُشتَطَبُ زروع البول عندما تُكشف مستويات مرتفعة للجراثيم بالفحص المجهري أو باستعمال غمائس البول، وفي مثل هذه الحالات يجب إرسال نموذج للبول إلى المختبر دون تأخير من أجل الزرع النصف كمي للأحياء الممرضة ولتحديد حساسيتها لمضادات المكْروبات.

8. فحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)

الشكل 1.8. توضع السائل الدماغي–الشوكي.

يوجد السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في الجوف الذي يحيط بالدماغ في القِحْف وبالنُّخاع (الحَبْل النُّخاعِيّ) في العمود الفِقَرِيّ (الشكل 1.8)، وهو يُزَوِّد أنسجة الجهاز العصبي المركزي بالمُغَذِّيات ويساعد على حماية الدماغ والنخاع من الإصابة.

يبلغ حجم السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في البالغين 100–150 مل. ويكون الحجم أقل لدى الأطفال ويختلف حسب طول الجسم.

1.8 الأسباب الشائعة لاستقصاء السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)

الأسباب الأكثر شيوعاً لاستقصاء السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) هي لاستبعاد:

- التهاب السحايا
- النزف ضمن الجهاز العصبي المركزي
- بعض السرطانات.

والتهاب السحايا هو التهاب يصيب الأغشية المُبَطِّنَة للقحف والعمود الفقري والمحيطة بالدماغ والنخاع، وغالباً ما ينجم عن العدوى (الجدول 1.8). إن الإبيضاضات والأورام ذات التظاهرات في الدماغ و التسمم بالرصاص تسبب أيضاً التهاب سحايا.

ملاحظة: إن التحري المباشر في المختبر للسائل النخاعي (الدماغي –الشوكي) قد يكون منقذاً للحياة في حال الاشتباه بالالتهاب سحايا.

2.8 أخذ نماذج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)

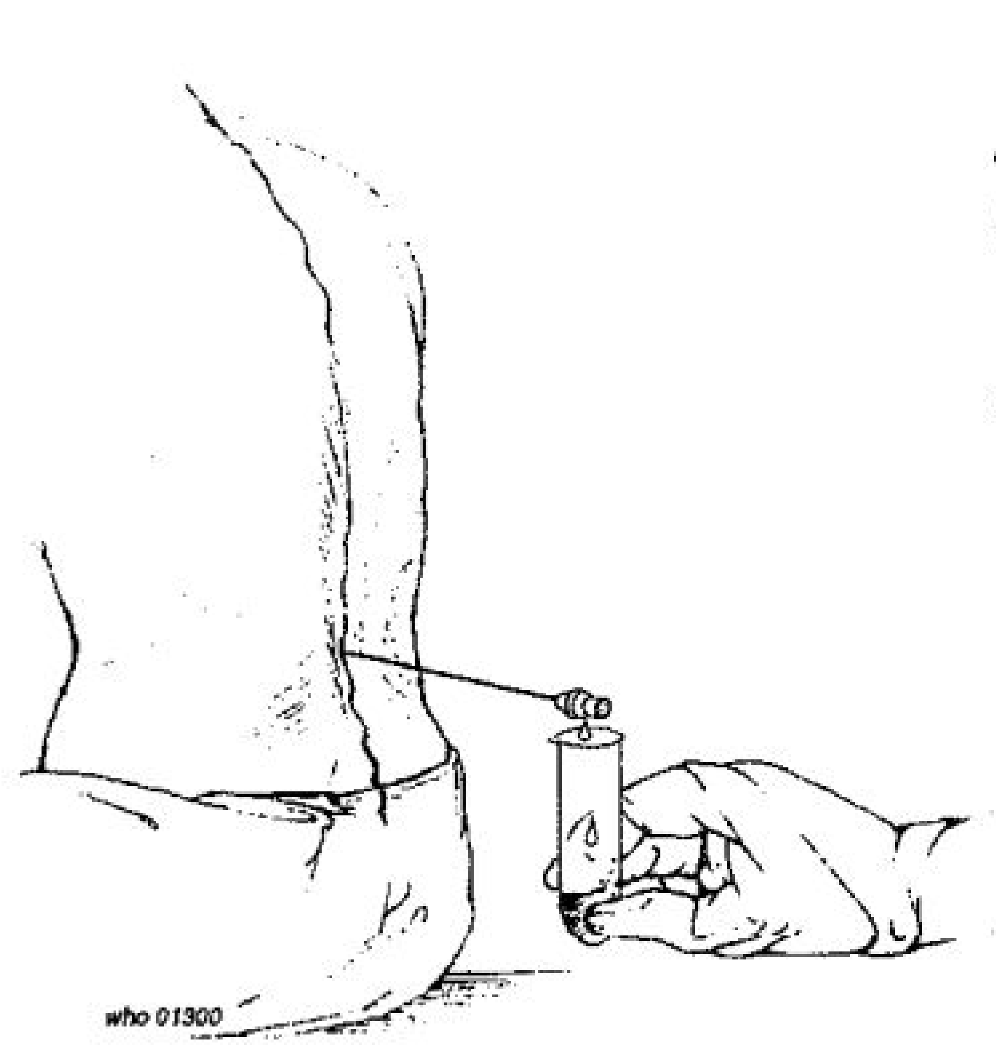
لا يجوز أن يؤخذ النموذج إلا من قِبَل طبيب أو مُمَرِّضَة مُدَرَّبَة تدريباً خاصاً.

1. تُغْرَز إبرة البزل القطني المنقسمة بين الفقرتين القطنيتين الرابعة والخامسة، بعمق 4–5 سم، ثم يُسْحَب مِرْوَدُها، فيسيل السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) خارجاً من الإبرة (الشكل 2.8).
2. يُجمع 6–7مل من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في كل من أنبوبين يُرَقَّمان بالرقمَيْن 1 و 2:

الأنبوب 1. يستخدم للتحري العياني والمجهري والتحليل الكيميائي.

الأنبوب 2: يستخدم للزرع البكتيري.

(تكون حجوم السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في الأطفال الصغار أقل).



الشكل 2.8. أخذ نموذج للسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).

3.8 فحص نماذج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)

1.3.8 الاحتياطات

- لا تتأخر في فحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي): إن الكريات والمُتَقَبِّيات سرعان ما تنحل في عينات السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)، كما أن الغلوكوز سرعان ما يتخرب كذلك ما لم يُحْفَظ بإضافة الأوكسالات الفلوريدية (الكاشف رقم 26؛ الفقرة 1.10).

الجدول 1.8. الأسباب الشائعة لالتهاب السحايا.

نمط العدوى	الحي النوعي
جرثومية	النيسرية السحائية
	العقدية الرئوية
	أنواع العقدية
	أنواع العنقودية
	المستدمية النزلية
	الإشريكية القولونية
	الليسترية المستوحدة
	أنواع البريمية
	المفطرة السلية
	اللولبية الشاحبة
	أنواع الزائفة
بالأوالي	أنواع المتصورة
فيروسية	الفيروس كوكساكي
	الفيروس المنقول بالمفصليات
	الفيروس إيكو
	الفيروس السنجابي
	فيروس النكاف
	الفيروس الرملي
	فيروس الهربس
	فيروس التهاب الكبد
فطرية	أنواع المبيضة
	أنواع المستخفية

- اعمل بعناية واقتصاد: كثيراً ما لا تتوافر إلا كمية صغيرة من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) للفحص، ومن الصعب أخذ النموذج ولذلك لا يجوز إضاعة أي شيء منه.
- قد يحتوي السائل على أحياء مُفَوَّعَة virulent: ولذلك ينبغي استعمال مِمَصَّات مسدودة بالقطن غير الماص أو تُستعمل بصلات أمان مطاطية لسحب السائل إلى داخل الممص، وإياك أن تمص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بالفم.

2.3.8 الفحص المباشر

يوصف مظهر نموذج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في التقرير.

السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) الرائق

السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) السوي رائق لا لون له (الشكل 3.8 (a)) .

السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) العَكِر

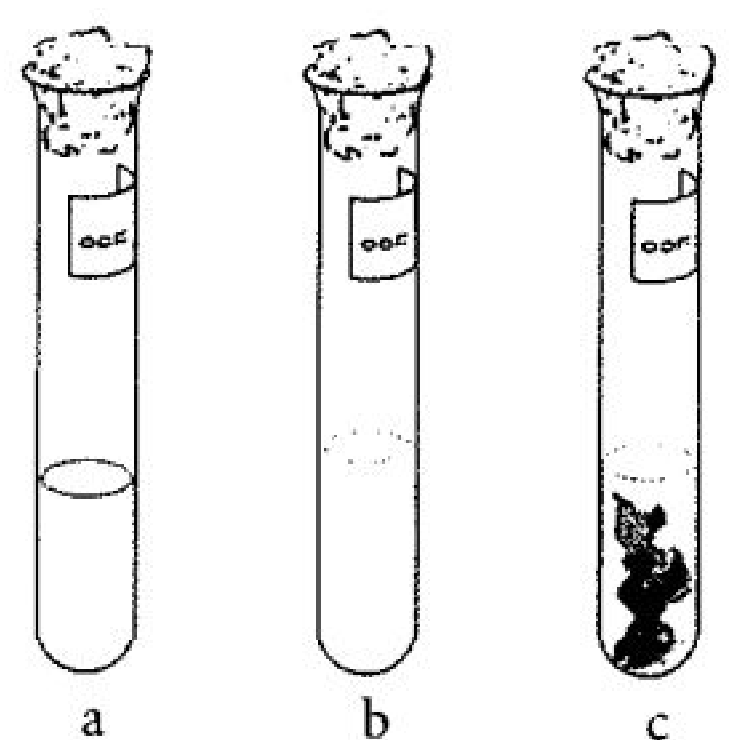
إذا كان القيح موجوداً فيمكن أن يبدو السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) عَكِراً قليلاً أو أبيض رمادياً (الشكل 3.8 (b)).

السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المُدَمَّى

إذا كان الدم موجوداً فيمكن أن يبدو السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) عَكِراً ووردي اللون أو مُحْمَرّاً (الشكل 3.8 (C)). ويكون الدم موجوداً عادةً في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) لواحد من السببين التاليين:

بسبب إصابة الأوعية الدموية في مَساق البزل القطني (في هذه الحالة يوجد مقدار من الدم في الأنبوب 1 أكبر منه في الأنبوب 2)؛

بسبب نزف تحت العنكبوتية (وفي هذه الحالة يكون للأنبوبين نفس اللون).



الشكل 3.8. فحص مظهر السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي): a: السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) الرائق (السوي)؛ b: السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) العكر c: السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المدمى.

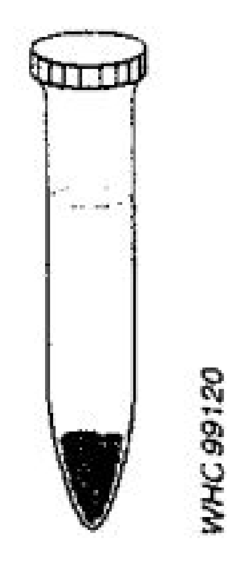
إذا لم يتوافر إلا أنبوب واحد من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)، يجري الانتظار حتى تترسب الكريات الحمر (أو يُنْبَذ السائل بقوة نابذة 2000 جاذبية لمدة 5 دقائق) ثم يُفْحَص السائل الطافي.
فإذا كان السائل الطافي رائقاً (الشكل 4.8) فإن الدم موجود بسبب إصابة حادِثِيَّة لوعاء دموي.
وإذا كان السائل الطافي مُلَوَّناً بالدم (الشكل 5.8) فإن الدم موجود بسبب نزف تحت العَنْكَبوتِيَّة.

الاصفرار xanthochromia

قد يُرى تلون أصفر في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) (الشكل 6.8)، ويمكن أن يكون مرده إلى:
- نزف قديم.
- يرقان شديد.
- تضيق العمود الفقري.

تشَكُّل الجُلْطَة

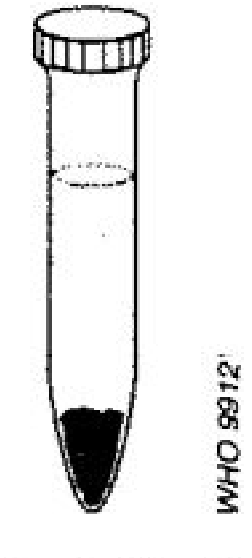
يُفحص أنبوب السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بعد 10 دقائق من أخذه لرؤية ما إذا كان قد تشكلت فيه جُلْطَة. فالسائل النخاعي (الدماغي الشوكي) السوي لا توجد فيه جُلْطَات، ولكن الجلطات يمكن أن تُكشف في الأمراض أو الحالات التالية:
- التهاب السحايا السُّلِّيّ: جلطات صغيرة ناعمة منفردة أو متعددة قد لا تلفت النظر؛
- التهاب السحايا القيحي: جلطة كبيرة؛
- تضيق العمود الفقري: يَتَجَلَّط السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) برُمَّتِه.
- إذا كانت الجلطات موجودة فيجب أن توصف في التقرير.



الشكل 4.8. السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المأخوذ من مريض لديه إصابة وعاء دموي.

3.3.8 الفحص المجهري

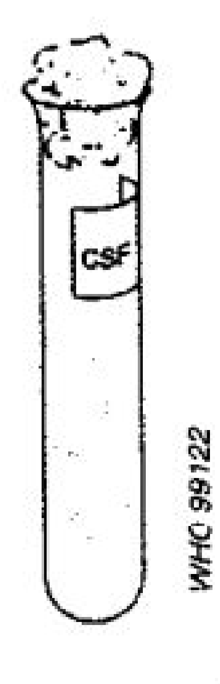
يتضمن الفحص المجهري للسائل النخاعي:
- فحص محضر رطب لتحري الكريات الدموية؛
- فحص محضر رطب لتحري المثقبيات في المناطق التي يحدث فيها داء المثقبيات؛
- فحص لطاخة ملونة بتلوين غرام لتحري الأحياء الأخرى التي تسبب التهاب السحايا كالنيسرية السحائية، والعقدية الرئوية، والمُسْتَدْمِيَة النَّزْلِيَّة (الجدول 1.8)؛
- فحص لطاخة ملونة بتلوين تسيل – نلسن إذا اشْتُبِهَ بالتهاب السحايا السلي؛
- تحري الفُطْرِيَّات إذا اشْتُبِهَ بها.
- تُجرى الفحوصات السابقة باستعمال الراسب الناتج من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المُثفَّل.



الشكل 5.8. السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المأخوذ من مريض لديه نزف تحت العنكبوتية.

الكريات الدموية في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)

يمكن أن يحتوي السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) على الكريات الدموية بكميات متفاوتة في بعض الأمراض. ويُفحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي):
- لكشف الكريات الدموية الحمراء؛
- لتعيين العدد الكلي للكريات الدموية البيضاء (التركيز العددي للكريات البيض)؛
- لتعيين أنماط الكريات الدموية البيضاء الموجودة (الصيغة الكروية أو التعداد التفريقي للكريات البيض).



الشكل 6.8. السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المأخوذ من مريض لديه اصفرار.



ملاحظة هامة: يجب أن يُجرى استقصاء الكريات الحمر بأسرع ما يمكن بعد أخذ النموذج لأنها سَرْعانَ ما تَنْحَلّ.

تعين التركيز العددي للكريات البيض

المواد والكواشف (الشكل 7.8)

- مجهر
- حُجَيْرَة عَدّ فوكس روزنْثال (فإذا لم تتوافر فيمكن استعمال حُجَيْرَة عَدّ نوباور المُحَسَّنَة).
- مَصّات باستور مع حَلَمَة مطاطية.
- سواتر (مُزَوَّدَة مع حُجَيْرَة العَدّ).
- قارورة صغيرة سعة 2–5 مل.
- محلول تورك (الكاشف رقم 61).

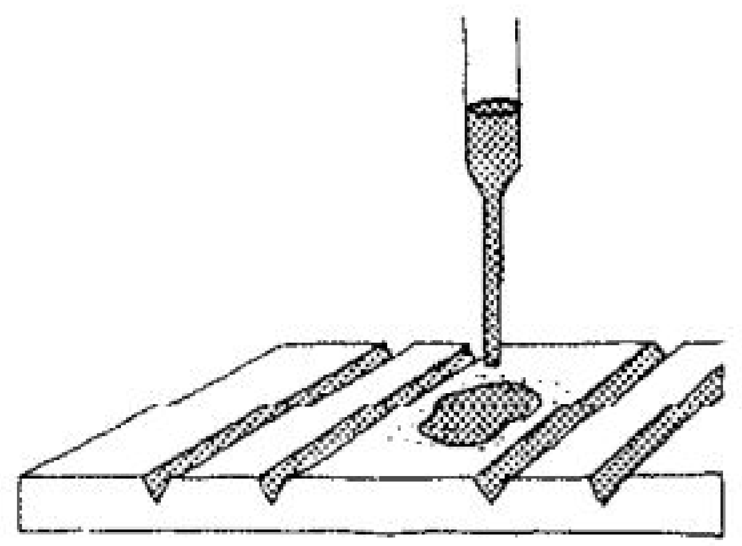
الشكل 7.8. المواد المستعملة لتعيين التركيز العددي للكريات البيض.

الطريقة

1. تُستر حُجيرة العد بالساترة المرافقة لها (الشكل 8.8).
2. يمزج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بلطف، وتُملأ الحُجيرة بالسائل (الشكل 9.8):
   – غير المُخَفَّف إذا كان السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) رائقاً؛
   – المُخَفَّف إذا كان السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) عَكِراً

يُجرى تخفيف بنسبة 1:20 باستعمال 0.05 مل من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) و0.95 مل من محلول تورك. يُمَصّ إلى داخل قارورة صغيرة ويُمْزَج.

3. تُترك حجيرة العَدّ على المنضدة مدة 5 دقائق لتستقر الكريات، ثم توضع على رف المجهر.
4. تُعَدّ الكريات في 1 ميليمتر مكعب من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) باستعمال الشيئية 10×.
   وعند تسجيل النتائج بالوحدات السِيئوِيَّة (وحدات النظام الدولي) تُسَجَّل: «العدد × 10^6/ل» ، وهذه القيمة لا تتبدل.
   مثال: 150 كرية بالـ مم3 تُسَجَّل: «150× 10^6/ل».





الشكل 8.8. ستر حجيرة العدّ بساترة.

الشكل 9.8. ملء حجيرة العدّ بالسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).

ملاحظة هامة: إذا استُعمل السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) دون تخفيف تُفحص الكريات بالشيئية 40× للتأكد من أن الكريات هي كريات بيضاء، فإذا كانت الكريات الحمر موجودة يُجرى التعداد باستعمال الشيئية 40×.

استعمال حجيرة عَدّ فوكس–روزنْثال:

إن حجيرة فوكس–روزنثال المُسَطَّرَة ذات مساحة 9 مم2 (الحجيرة المُعَدَّلَة) أو 16 مم2، وعمق 0.2 مم.
تُعَدّ الكريات في 5 مم2 باستعمال المربعات 1–4–7–13–16 (الشكل 10.8).
إذا استعمل السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) دون تخفيف لا حاجة لأي حساب، إذ أن عدد الكريات المعدودة يعطي عددها في الميليمتر المكعب من السائل النخاعي (الدماغي– الشوكي).
وإذا استعمل تخفيف 1:20 للسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) فإن عدد الكريات المعدودة يضرب بـ 20 لإعطاء عدد الكريات في كل مم3 من السائل النخاعي (الدماغي– الشوكي).

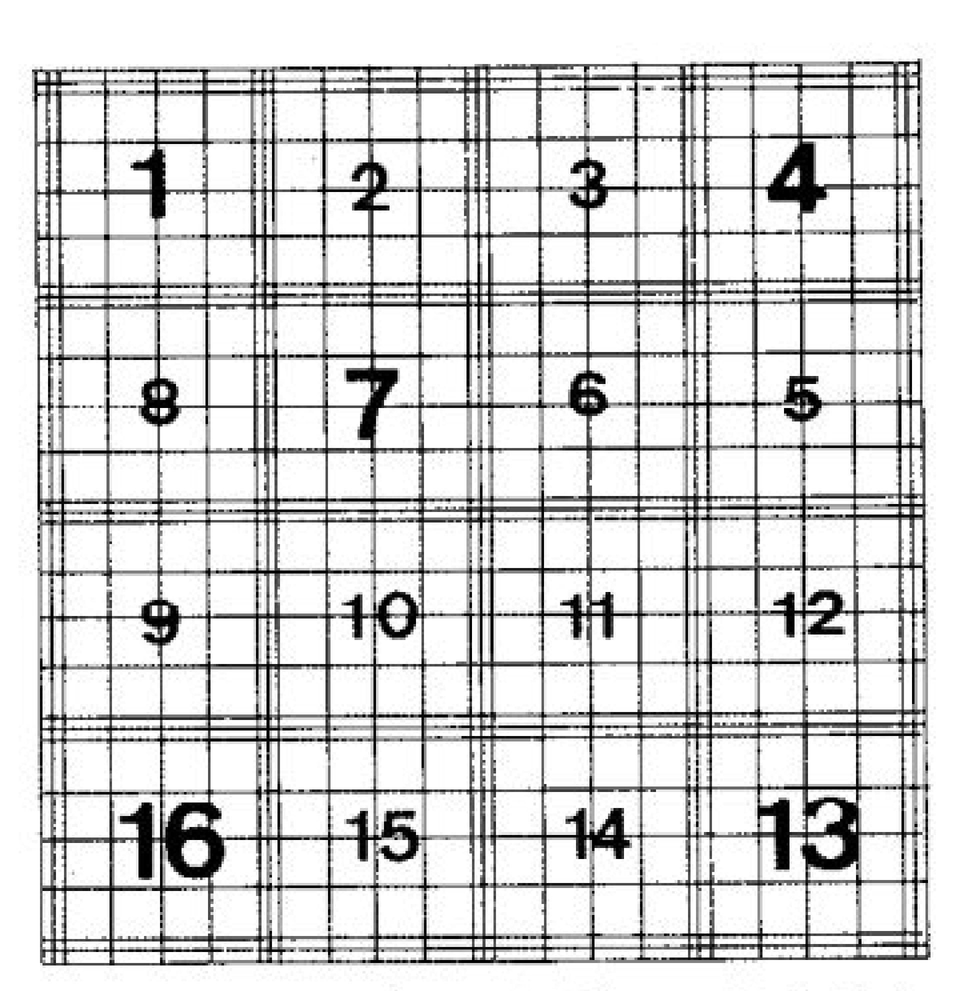


استعمال حجيرة عَدّ نوباور المُحَسَّنَة:

إذا استعملت حجيرة نوباور المُحَسَّنَة فتُعَدّ الكريات في المساحة المُسَطَّرَة بكاملها وهي تعادل 9 مم^3.

إذا استعمل السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) غير المُخَفَّف يُضرب عدد الكريات بـ 10 ويُقَسَّم على 9 لإعطاء عدد الكريات/1 مم^3 من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).

وإذا استعمل تخفيف 1:20 للسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) يُضرَب عدد الكريات المعدودة بـ 200 ويُقَسَّم على 9 لإعطاء عدد الكريات/1 مم^3 من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).



الشكل 10.8. حجيرة عَدّ فوكس–روزنثال.



النتائج

يحتوي السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) السوي على أقل من 5×10^6 كرية بيضاء باللتر (أقل من 5/مم^3). ويمكن أن يزداد عدد الكريات البيض في الحالات التالية:

- التهاب السحايا الجرثومي (بالمُكَوَّرات السحائية، أو المُسْتَدْمِيَة النَّزْلِيَّة، أو المكورات الرئوية): معظمها عَدِلات.
- التهاب السحايا السلي والفيروسي: معظمها لمفاويات.
- داء المثقبيات الإفريقي: معظمها لمفاويات، ولكن يمكن أن نُرى خلايا موط mott بالإضافة إلى المِثْقَبِيّات.

تعيين الكسر العددي لأنماط الكريات البيض (الصيغة الكروية أو التعداد التفريقي للكريات البيض)

المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح مجهرية
- منبذة.
- أنابيب تنبيذ.
- ممصات
- ملون رومانوفسكيّ (الفقرة 1.10.9).
- ميثانول.

الطريقة

إذا لم يكن السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) يحتوي على كثير من الكريات (أقل من 200×10^6/ل):

1. يُنَبَّذ السائل النخاعي (الدماغي– الشوكي) بسرعة كبيرة (قوة نابذة 3000 جاذبية) مدة 10 دقائق، ثم يُنقل السائل الطافي إلى أنبوب آخر (لِيُسْتَعْمَل للاختبارات الأخرى).
2. يَمزَج الراسب بالنَّقر على قاع الأنبوب، ثم يُفرَش على شريحة نظيفة ويُترك ليجف.
3. يُثَبَّت بالميثانول ويُلَوَّن بملون رومانوفسكي كما وُصِف في الفقرة 3.10.9، ثم تُفحص الكريات بالمجهر باستعمال الشيئية 40×.

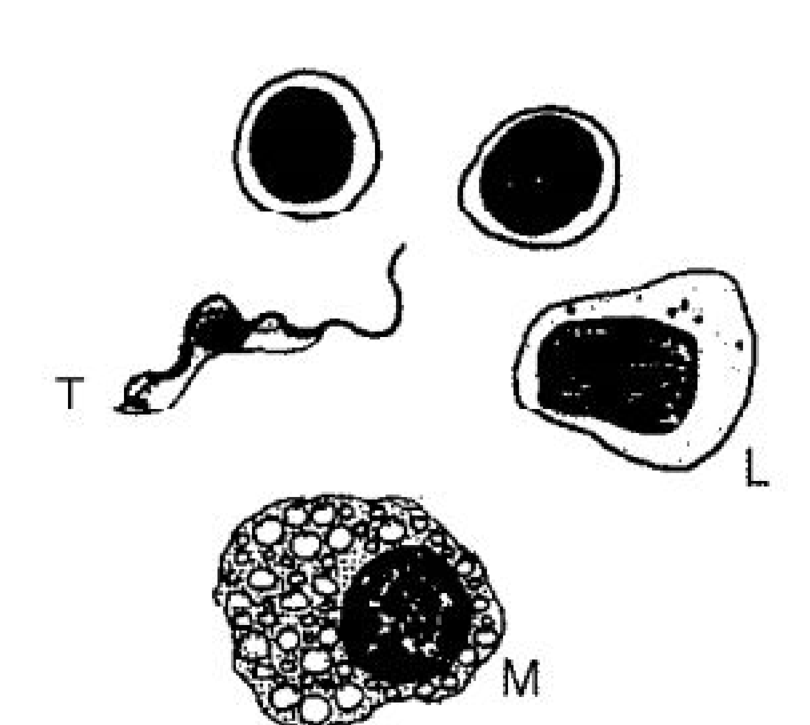
أما إذا كان هناك كثير من الكريات في السائل النخاعي (الدماغي– الشوكي):

1. تُمَصّ قطرة واحدة من السائل النخاعي (الدماغي– الشوكي) الممزوج غير المُنَبَّذ وتُنَقَّط على شريحة.
2. تُعْمَل منها لطاخة رقيقة وتُترك لتجف.
3. تُثَبَّت بالميثانول وتُلَوَّن بملون رومانوفسكي كما وُصِف في الفقرة 3.10.9.

المُحضَّر الرطب لتحري المِثْقَبِيّات

الطريقة

توضع قطرة واحدة من راسب السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) على شريحة وتُسْتَر بساترة، ويُفحص المُحَضَّر تحت المجهر باستعمال الشيئية 40×.



الشكل 11.8. مظهر المثقبيات في محضر رطب ملون بملون رومانوفسكي:
L: لمفاويات؛ M: خلايا موط؛
T: مثقبيات.

إن كشف مثقبيات متحركة في السائل النخاعي (الدماغي – الشوكي) يعني أن المرض قد بلغ دوره الأخير الذي يكون فيه الجهاز العصبي المركزي مصاباً بالعدوى (الفقرة 3.7.4)، ويكون البروتين في السائل النخاعي (الدماغي – الشوكي) مرتفعاً واختبار باندي إيجابياً (الفقرة 5.3.8)، ويحتوي السائل كذلك على عدد مزداد من الكريات البيض.

في المُحضَّر الرطب المُلوَّن بملون رومانوفسكي يمكن تعيين هوية الكريات البيض على أنها لمفاويات (L)، وغالباً ما تُرى خلايا موْط (M) (الشكل 11.8) وهي خلايا كبيرة تحتوي على فجوات وعلى مقادير كبيرة من الغلوبولين المناعي M(IGM) الذي يتلون باللون القاتم باليوزين الموجود في الملونات الرومانوفسكية (الفقرة 4.10.9).

اللطاخة الملونة بتلوين غرام لتحري التهاب السحايا

الطريقة

تُعمَل لطاخة من راسب السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) وتُترك لتجف في الهواء، وتلون اللطاخة بملون غرام كما وُصِف في الفقرة 1.3.5.

إن أية جراثيم تُرى في لطاخة ملونة بملون غرام تُسجل كما يلي:

- تفاعل غرام: إيجابي أو سلبي.
- المورفولوجيا (الشكل): مكورات أو مكورات مزدوجة أو عصيات، الخ...
- الأعداد الموجودة منها.

ولا يمكن تعيين هوية النوع الموجود بشكل نهائي من لطاخة ملونة بملون غرام فقط بل يكون زرع الجراثيم ضرورياً.

إن الجراثيمَ التي تسبب التهاب السحايا بشكل شائع موصوفةٌ فيما يلي:

النيسرية السحائية (المكورات السحائية) (الشكل 12.8)

- سلبية الغرام.
- مكورات مزدوجة، تستقر جَنْباً إلى جَنْب.
- داخل الخلايا، داخل الخلايا.

ملاحظة: يمكن أن تُرى المكورات المزدوجة أحياناً خارج الخلايا وتكون بأعداد قليلة عادةً.

العقدية الرئوية (المكورات الرئوية) (الشكل 13.8)

- إيجابية الغرام.
- مكورات مزدوجة، نهاية كل واحدة منها إلى نهاية الأخرى.


الشكل 12.8. النيسرية السحائية.


الشكل 13.8. العقدية الرئوية.



الشكل 14.8. المستدمية النزلية.

- تكون محاطة بمحفظة لا ترى بملون غرام.
- ليست داخل الخلايا.
- كثيرة العدد عادةً.

المُسْتَدْمِيَة النَّزْلِيَّة (لا سيما في الأطفال الصغار) (الشكل 14.8)

- سلبية الغرام.
- عُصَيَّات صغيرة (عَصَوِيَّات مُكَوَّرَة = عُصَوَّرَات coccobacilli).
- ليست في داخل الخلايا.
- كثيرة غالباً.

في كل أشكال التهاب السحايا الآنفة الذكر تكون الكريات البيضاء الموجودة من نوع العَدِلات.



عصيات إيجابية الغرام

نادراً جداً ما توجد؛ ويمكن أن تنتمي إلى مجموعة اللِّسْتَرِيَّة، ويكون الزرع ضرورياً.



الشكل 15.8. عصيات صامدة للحمض.

اللطاخة الملونة بتلوين تسيل-نلسن لتحري التهاب السحايا السلي

الطريقة

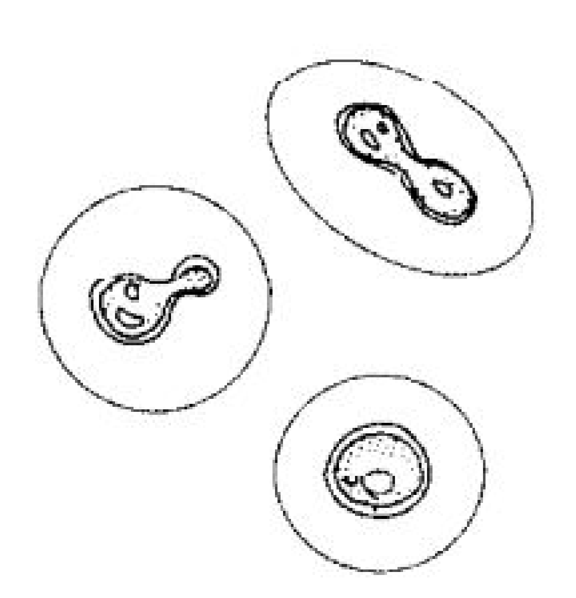
إذا اشتُبه بوجود التهاب السحايا السلي، يُترك السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي) قائماً حيث يمكن أن تتشكل فيه جُلْطَة رقيقة، ويمكن أن تُسْتَخْرَج هذه الجُلْطَة وتُفْرَش على شريحة وتُلَوَّن بطريقة تسيل - نلسن كما تقدم وصفها في الفقرة 3.3.5.

إذا شوهدت الجراثيم (الشكل 15.8) تُسَجَّل نتيجة اللطاخة كما يلي: „العصيات الصامدة للحمض موجودة".

الفُطْرِيَّات في السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي)

نادراً ما تُلاحَظ الفطريات (المُسْتَخْفِيَة المُوْرِمَة والمُبْيَضَّة البيضاء) في اللطاخة الملونة بطريقة غرام.

يمكن أن توجد المستخفية المورمة في سائل نخاعي عَكِر يحتوي على اللمفاويات.



الشكل 16.8. المستخفية المورمة.

الطريقة

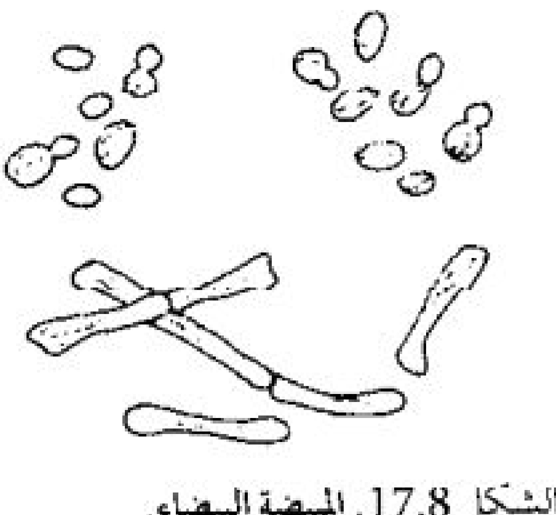
تُمزج على شريحة مجهرية:

- قطرة واحدة من راسب السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي)؛
- قطرة واحدة من الحبر الهندي.

يُفحص المزيج بين شريحة وساترة.

تبدو المستخفية المورمة كما يلي (الشكل 16.8):

- أبواغ مُدَوَّرَة مُتَبَرْعِمَة محتوية على حُبيبات رمادية.
- كل زمرة من 1-3 أبواغ تكون محاطة بمحفظة عديمة اللون.



الشكل 17.8. المبيضة البيضاء.

يمكن أن توجد المبيضة البيضاء في محضر رطب غير ملون لراسب السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي)، وتبدو كما يلي (الشكل 17.8):

- أبواغ بيضاوية مُتَبَرْعِمَة؛
- خيطان أُفْطُورِيَّة قصيرة.

4.3.8 تعيين تركيز الغلوكوز

يبلغ تركيز الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي) في الحالة السوية حوالي 60% من تركيزه في الدم؛ أي 2.5-4.2 مل مول /ل (45-75 ملغ/100مل)

ينْقص تركيز الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي-الشوكي) كثيراً لدى المرضى المصابين بالتهاب السحايا (ولا سيما التهاب السحايا القيحي والسلي).

الطريقة

لتعيين تركيز الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) يمكن أن تُطَبّق الطرق المُسْتَعْمَلَة لتعيين تركيز غلوكوز الدم، وحين استعمال طريقة الأورثوطولويدين (الفقرة 1.10)، وتدعو الحاجة إلى مقدار من السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) أكبر بأربع مرات مما يلزم في الاختبار المُجرى على الدم.

ملاحظة هامة: لما كان الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) يتخرب بسرعةٍ فوْرَ أخذ السائل، فمن الضروري إجراء تقدير تركيز الغلوكوز بأسرع ما يمكن، وإذا كان هنالك احتمال للتأخير فيجب أن يُحْفَظ السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بإضافة الأوكسالات الفلورية (الكاشف رقم 26).

5.3.8 تعيين تركيز البروتين

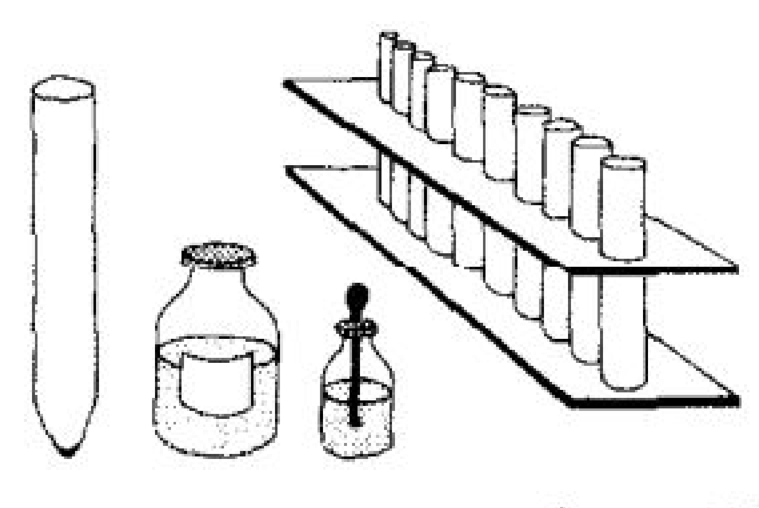
المبدأ

يُقاس تركيز البروتين الكلي في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بتخفيف السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في حمض السلفوساليسيليك ومقارنة العَكَر الناتج مع سلسلة مِعْيارِيَّة بروتينية.

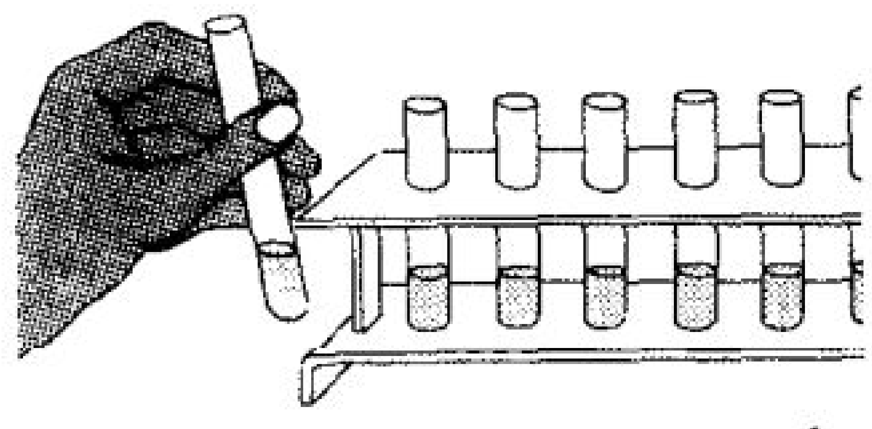
ويمكن كشف ارتفاع مستوى الغلوبولين في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بإضافة هذا السائل إلى محلول فينولي في اختبار باندي (انظر أدناه).

المواد والكواشف (الشكل 18.8)

- السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي): يُنَبَّذ السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) بقوة نابذة 2000 جاذبية لمدة 5 دقائق ويُستعمل السائل الطافي.
- ممصات مدرجة
- ممصات قَطَّارَة
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- ورق مقوى أسود
- محلول حمض السلفوساليسيليك 3% (الكاشف رقم 57).
- كاشف باندي (الكاشف رقم 41).
- معايير بروتينية (الفقرة 5.2.7).



الشكل 18.8. المواد والكواشف المستعملة لتعيين تركيز بروتين السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).



الشكل 19.8. مقارنة عينة الاختبار مع المعايير البروتينية.

طريقة تعيين البروتين الكلي

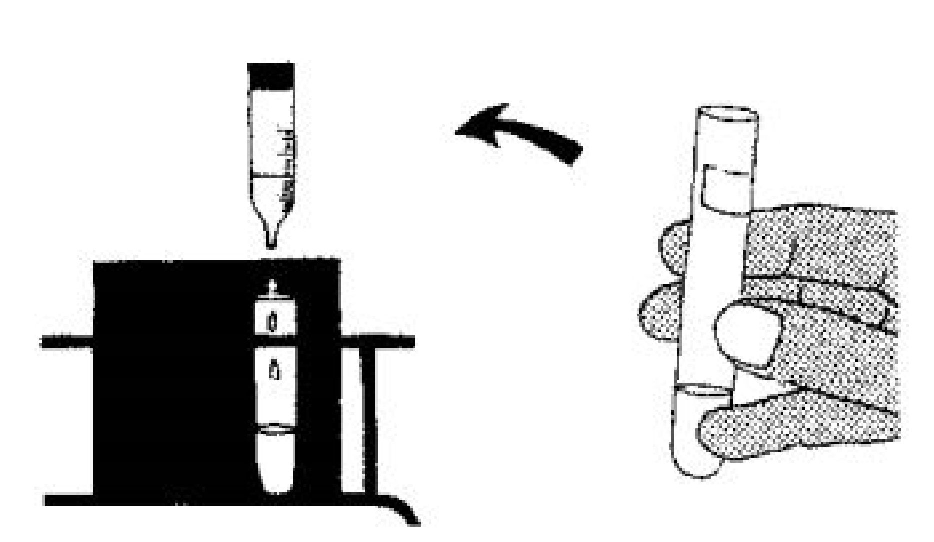
1. يُمَصّ 3 مل من حمض السلفوساليسيليك ويوضع في أنبوب اختبار مماثل الأنابيب المحتوية على المعايير البروتينية.
2. يُضاف 1 مل من السائل الطافي الرائق للسائل النخاعي، ويُمزج، ويترك الأنبوب 5 دقائق.
3. يُقارن عَكَر عينة الاختبار مع عَكَر المعايير البروتينية (الشكل 19.8)، ويُسَجّل تركيز البروتين في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) مقدراً بالـ غ/ل.

يبلغ التركيز السوي للبروتين في السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) 100–450 ملغ/ل، ويزداد تركيز البروتين في:

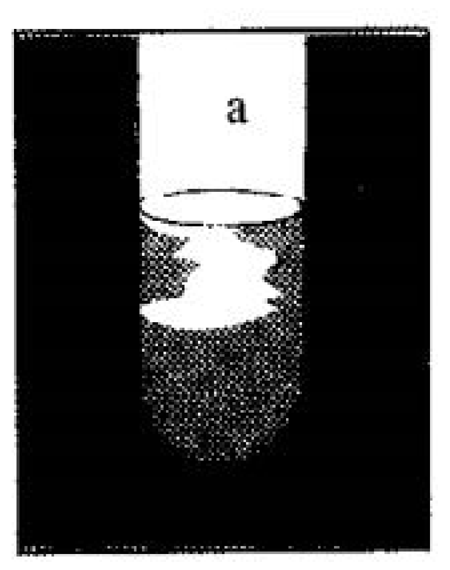
- التهاب السحايا، أو النزف تحت العنكبوتية أو تضيق العمود الفقري (انضغاط النخاع)؛
- داء المثقبيات الإفريقي.

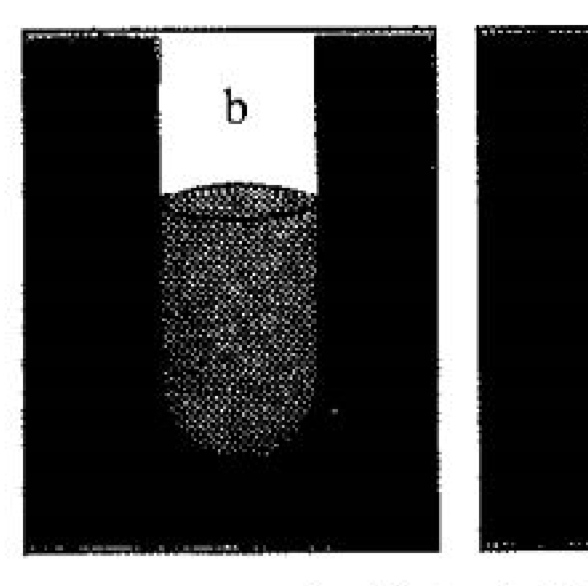
طريقة تعيين الغلوبولين: اختبار باندي

1. يوضع 1 مل من كاشف باندي في أنبوب اختبار صغير.
2. يوضع الأنبوب أمام قطعة من الورق المقوى الأسود.



الشكل 20.8. إضافة السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) إلى كاشف باندي.





الشكل 21.8. اختبار باندي لتحري الغلوبولين
a: نتيجة إيجابية؛ b: نتيجة سلبية

الجدول 2.8 الموجودات النموذجية بفحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).

المرض أو الحالة	المظهر	تركيز الكريات الدموية	تركيز البروتين	تركيز الغلوكوز	موجودات أخرى
التهاب السحايا القيحي	عكر، مُصْفَرّ	> 3000/مكل، معظمها محببات	مرتفع كثيراً، 1–10 غ/ل	ناقص كثيراً	جراثيم
التهاب السحايا السلي	رائق أو رائق تقريباً	30–300/مكل، معظمها لمفاويات	مرتفع	ناقص كثيراً	جراثيم، بروتينات مُتَجَلطة
التهاب السحايا الفيروسي	رائق	10–300/مكل، معظمها لمفاويات	سوي إلى مرتفع قليلاً	سوي	–
الملاريا	عكر قليلاً	مرتفعة، معظمها محببات	مرتفع	ناقص	–
داء المثقبيات الإفريقي	رائق أو عكر قليلاً	> 5 كريات/مكل، معظمها لمفاويات	مرتفع	ناقص	مثقبيات، خلايا موط Mott
النزف تحت العنكبوتية	أحمر	غير قابلة للتفسير	غير قابل للتفسير	غير قابل للتفسير	بعد التنبيذ: مصفر
انضغاط النخاع	رائق، مصفر	سوية أو مرتفعة قليلاً	مرتفع كثيراً	سوي	–

3. تُستعمل مِمَصَّة قَطَّارَة ويُنَقَّط منها ببطء 3 قطرات من السائل الطافي للسائل النخاعي (الشكل 20.8).
يُفحص المحلول بعد إضافة كل قطرة.
4. تُقرأ النتائج على الفور.

إذا كان الغلوبولين موجوداً تتشكل غَمَامَة بيضاء مع نزول قطرات السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) وامتزاجها بالكاشف (الشكل 21.8 a).

إذا كان الغلوبولين غائباً لا تتشكل أية غمامة بيضاء مع نزول قطرات السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) وامتزاجها بالكاشف، بل يبقى السائل رائقاً أو يتشكل عَكَر خفيف جداً لا يلبث أن يذوب ثانيةً (الشكل 21.8 b).

تُسَجَّل نتائج الاختبار كما يلي: „اختبار باندي إيجابي" أو „اختبار باندي سلبي".

6.3.8 خلاصة

يلخص الجدول 2.8 الموجودات النموذجية بفحص السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي).

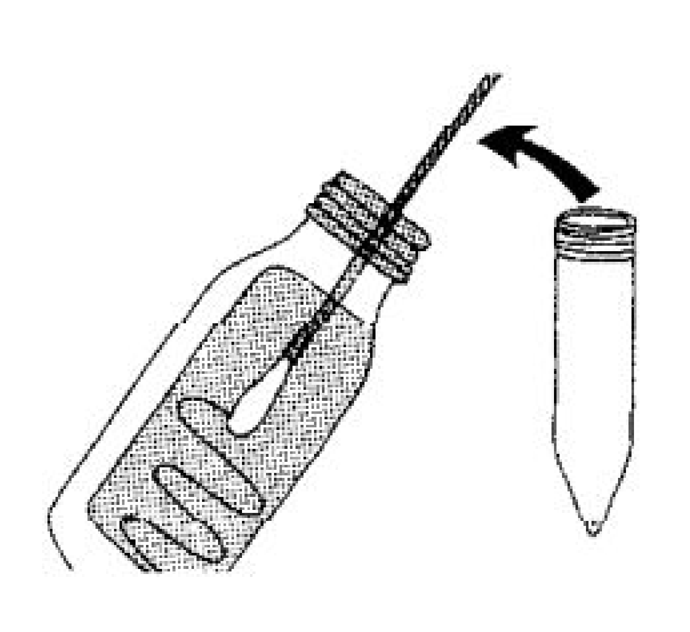
4.8 إرسال نماذج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) للزرع

قبل الإرسال يُحفظ السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في الحاضنة بحرارة 37 س ولا يوضع في الثلاجة (الثلاجة).

1.4.8 المواد والكواشف

- قوارير مُبَطَّحَة تحتوي على وسط ملائم للنقل كوسط ستيوارت المُعَدَّل للنقل (الكاشف رقم 56).

2.4.8 الطريقة التي تستعمل وسط ستيوارت للنقل (لاستفراد النيسرية السحائية)



الشكل 22.8. إرسال نماذج السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) للزرع باستخدام وسط ستيوارت للنقل.

هذه هي الطريقة الأمثل إذا كانت قوارير الوسط متوافرة، والعادة أن يُزَوَّد بالوسط في قوارير سعتها 30 مل تحتوي على 8 مل من وسط صلب (على طول جانب واحد من جوانب القارورة المُبَطَّحة). وتكون القوارير مملوءة بمزيج من الهواء (90%) وثنائي أكسيد الكربون (10%).

تُتَّبع التعليمات المُعطاة من أجل المكورات البنية في الفقرة 4.5.5.

وإذا أمكن يُثفَّل راسب السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) المُنبَذ على الوسط (الشكل 22.8)، وإلا فيُستعمل السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) غير المُنبَّذ.

زمن الحفظ: حتى 4 أيام في حرارة الغرفة.

9 . الدمويات

الدمويات هي دراسة الخلايا الموجودة في الدم والعوامل التي تؤثر على وظيفتها.

حجم الدم في البدن الإنساني

إن كهلاً يزن 60 كيلو غراماً فيه حوالي 4.5 لتراً من الدم، فلا خَطَرَ إذاً من أخذ 0.5 لتر من الدم كتبرع لنقل الدم، ولا خطر في أخذ أنبوبين أو أكثر بسعة 10 مل لكل أنبوب من أجل التحليل، وينبغي توضيح ذلك للمرضى القلقين عند أخذ الدم منهم.

1.9 أنماط خلايا الدم (الكريات)

يمكن أن تميز ثلاثة أصناف رئيسة للخلايا الدموية تحت المجهر: الكريات الحمر، والكريات البيض، والصفيحات.

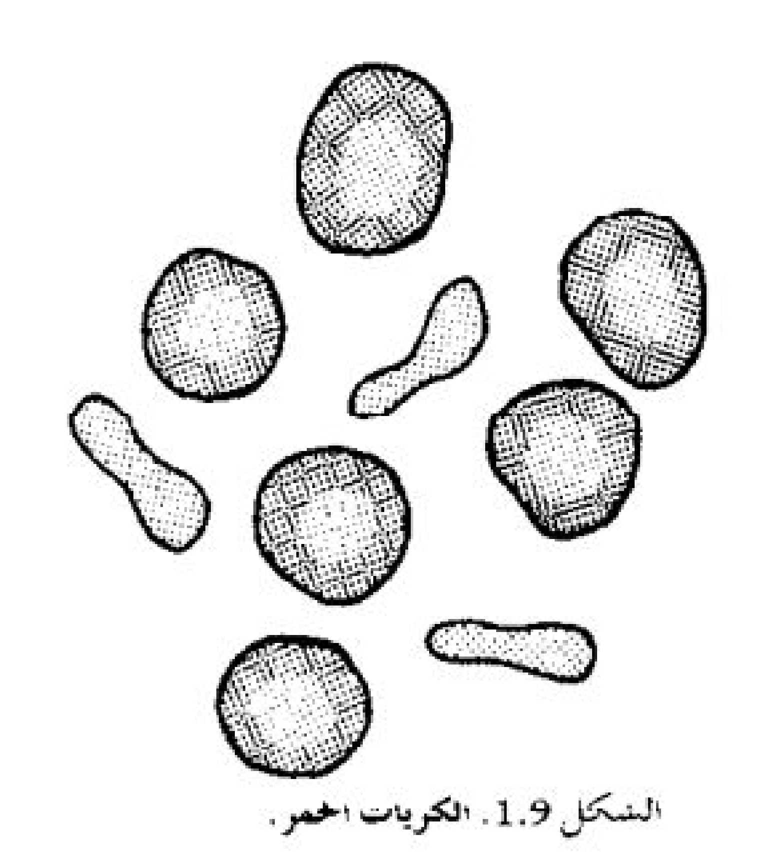
1.1.9 الكريات الحمر (الشكل 1.9)

المظهر: خلايا مُدَوَّرَة أو بيضاوية قليلاً مملوءة بالهيموغلوبين (خضاب الدم)، وتظهر بعد التلوين بملون رومانوفسكي (الفقرة 4.10.9) بلون زهري مع وجود منطقة مركزية شاحبة، وتبدو من جانبها بشكل أقراص مُقَعَّرَة الوجهين، وهي لا تحتوي على نوى.

الحجم: 7–8 مكم.

التركيز العددي: في الحالة السوية حوالي 4–5 × 10^{12} باللتر من الدم.

تحمل الكرياتُ الحمر الهيموغلوبينَ الذي يتحد بالأوكسجين ويحمله من الرئتين إلى الأنسجة، وهي كذلك تحمل ثنائي أكسيد الكربون من الأنسجة إلى الرئتين وبذلك تقوم بتنحية الناتج النهائي الرئيسي الذي تُسْتَقْلَب إليه معظمُ المواد العضوية في البدن.



الشكل 1.9. الكريات الحمر.

2.1.9 الكريات البيض (الشكل 2.9)

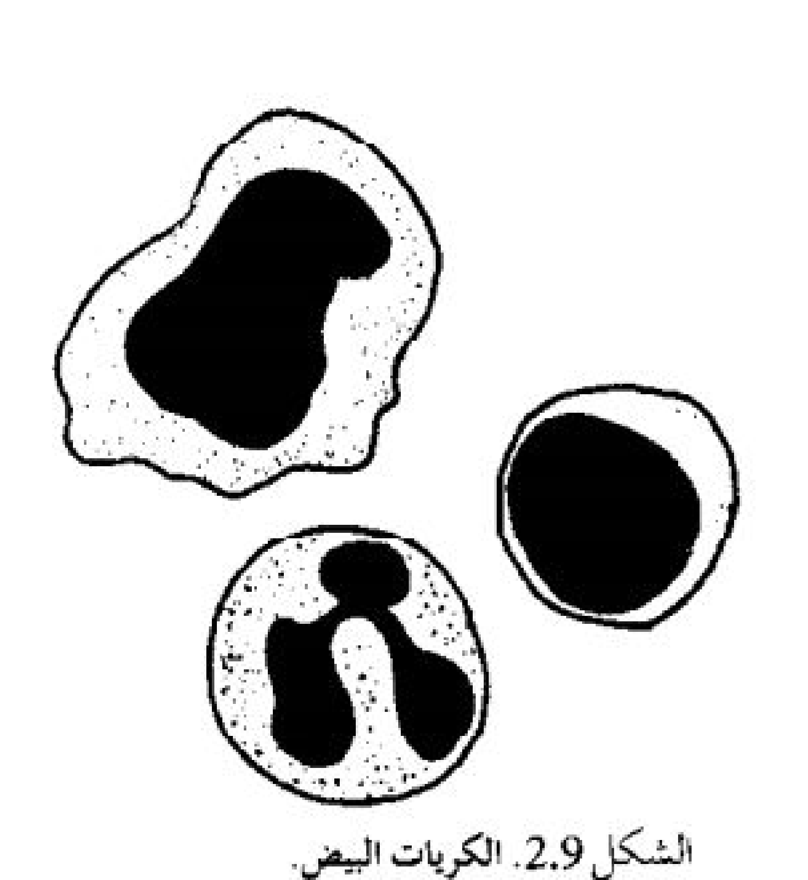
المظهر: خلايا مدورة تحوي نواة وحبيبات في الهيولى.

الحجم: 9–20 مكم.

التركيز العددي: في الحالة السوية حوالي 8 × 10^{9} باللتر من الدم (8000/مم^{3}).

إن وجود النواة فيها يسمح بتمييزها بسهولة من الكريات الحمر تحت المجهر. وتوجد خمسة أنماط رئيسية للكريات البيض (المَدِلات، اليوزينيات، القَعِدات، اللمفاويات، الوسيدات) تختلف في الحجم، وشكل النواة، ولون الحبيبات الموجودة في الهيولى، وغير ذلك من العوامل؛ ويمكن استعرافها بالمجهر بعد التلوين بملون رومانوفسكي (الفقرة 4.10.9).

للكريات البيض دور ملاحظة هامة في الدفاع أو في الجهاز المناعي.



الشكل 2.9. الكريات البيض.

3.1.9 الصُّفَيْحات (الشكل 3.9)

الصفيحات هي شُدَف (قطع) من النواءات توجد في الدم المحيطي حيث تَنْخَرِط في عملية تشكل الجُلْطَة.

الحجم: 2–5 مكم.

الهيولى: يُرى منها القليل جداً، وتحتوي على حبيبات.

يحتوي الدم في البالغين الأصحاء على حوالي 150–300 ×10^9 صفيحة باللتر (150000–300000/ مم^3).

الشكل 3.9. الصفيحات.

تَجَلُّط (تخثر) الدم[1]

عندما يؤخذ الدم في أنبوب زجاجي فإنه يَجْمُد في غضون 5 10 دقائق مؤلِّفاً جُلْطَة فيقال إنه قد تَخَثَّر.

ينفصل الدم المتجلط إلى مُكَوِّنَيْن اثنين (الشكل 4.9):

- المَصْل، وهو سائل أصفر؛
- الجُلْطَة، وهي كتلة جامدة حمراء.

وإذا أضيف مضاد تخثر إلى الدم سالما يؤخذ، فإنه يمكن منع حدوث التجلط ويبقى الدم سائلاً. ومن الأمثلة على مضادات التخثر الأوكسالات الفلوريدية (الكاشف رقم 26)، والمحلول المائي للسيترات الثلاثية الصوديوم 2.3% (الكاشف رقم 60)، ومحلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات 10% EDTA (الكاشف رقم 22).

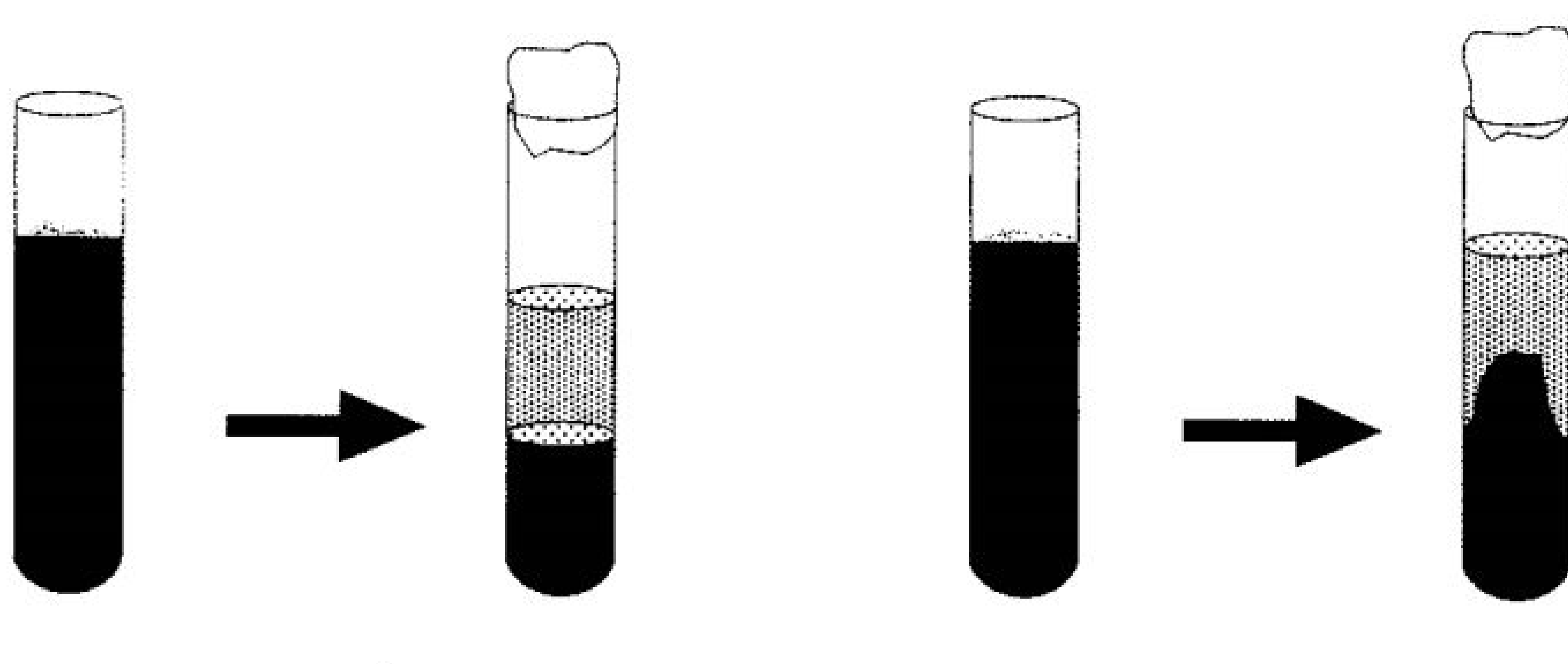
أما الدم الذي عومل بمضاد التخثر فينفصل إلى مكونين سائلَيْن (الشكل 5.9):

- البلازما، وهي سائل أصفر؛
- الكريات التي تتثفل لتشكل طبقة رقيقة من الكريات البيض فوق راسب من الكريات الحمر.

الفرق بين البلازما والمصل

تحتوي البلازما على بروتين ذوّاب يدعى الفِبْرينوجين (مُوَلِّد الفِبْرين).

لا يحتوي المصل على الفبرينوجين ولكن كل البروتينات الأخرى موجودة، ويتحول الفبرينوجين إلى الفبرين اللاذوّاب الذي يشترك مع الكريات الحمر في تشكل الجلطة



الشكل 5.9. الدم المُعامَل بمضاد تخثر.

الشكل 4.9. الدم المتجلط.

1. أنظر الفقرة 9.9

2.9 أخذ نماذج الدم

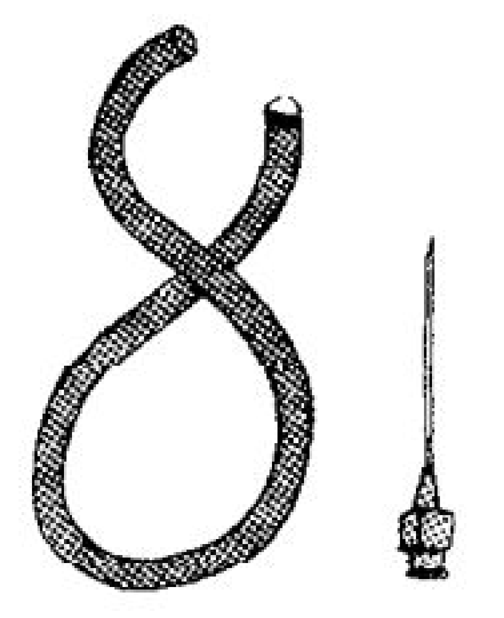
1.2.9 المبدأ

يؤخذ الدم الوريدي من وريدٍ في الذراع بواسطة إبرة ومِحْقَنَة كما هو موصوف أدناه.

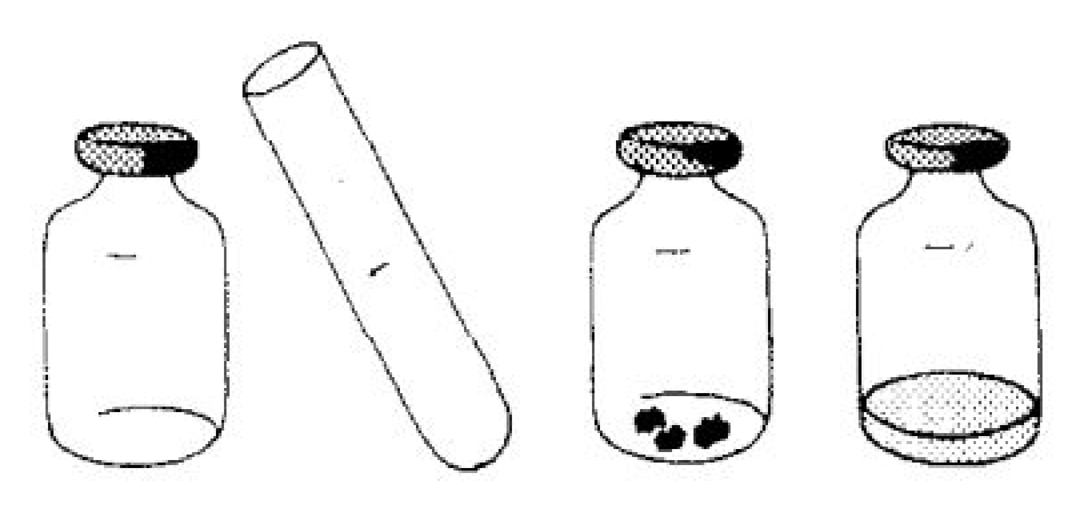
إن الدم الشعيري يمكن أخذه من الإصبع أو الأذن أو العقب لدى الأطفال، كما هو موصوف في الفقرة 1.4.9.

2.2.9 المواد والكواشف

- من أجل تطهير الجلد:
  - قطن – إيثانول 70% أو صبغة اليود.
- من أجل بزل الوريد (الشكل 6.9):
  - قفازات.
  - عاصِبَة مكونة من أنبوب مطاطي طري بقطر 2–3 مم
  - إبر بطول: 30–40 مم، وعِيار gauge 20 او 19 أو 18. الحَلْقَة (الشطفة) متوسطة.
- لأخذ الدم:
  - المَحاقِن، وسَعَتُها 2 أو 5 أو 10 أو 20 مل (ينبغي التأكد من أن نهاية كل محقنة تلائم الإبرة جيداً).
  - القوارير أو أنابيب الاختبار (الشكل 7.9)، وينبغي أن تكون إما فارغة أو محتوية على مضاد تخثر (الفقرة 3.1.9)، ويجب أن تحمل علامة تدل على المقدار المطلوب من الدم (مثلاً عند مستوى 5 مل).



الشكل 6.9. المواد المستعملة لبزل الوريد.



الشكل 7.9. المحاقن وأنابيب الاختبار المستعملة لأخذ نماذج الدم.

لأخذ الدم من الأطفال تحت السنة الخامسة من العمر تستعمل إبر من عيار 23 أو عيار 25.

يُحْتَفَظ بمخزون من الإبر المعقمة كل منها في أنبوب زجاجي صغير، وينبغي إراحة رأس الإبرة على وسادة من القطن غير الماص ثم يُسَدّ الأنبوب بنفس القطن.

3.2.9 الطريقة

التحضير

1. يُقْرَأ بعناية طلبُ الفحص الذي أتى به المريض:
   (أ) يُقَرَّر المقدار الذي يَلْزَم من الدم.
   (ب) تُهَيَّأ القارورة المناسبة أو الأنبوب المناسب اللذان ينبغي استعمالهما لكل اختبار.
2. إذا كان الدم سيُرْسَل لإجراء عدة استقصاءات مختبرية مختلفة فيجب أن يُخَطَّط للتتابع الذي تؤخذ به عينات الدم (فمثلاً يجب أن يُسْتَبْعَد 1 مل الأول من الدم حين أخذ الدم لإجراء مقايسات التخثر).
3. قبل أخذ الدم تُغْسَل اليدان بالماء والصابون.
   يُطْلَب إلى المريض أن يجلس بجانب المنضدة المَخَصَّصة لأخذ الدم.
   تُمَدّ ذراعه على المنضدة، ورَاحَةُ الكف إلى الأعلى، وتُسْنَد بوضع وِسادَة صغيرة تحت المِرْفَق (الشكل 8.9).

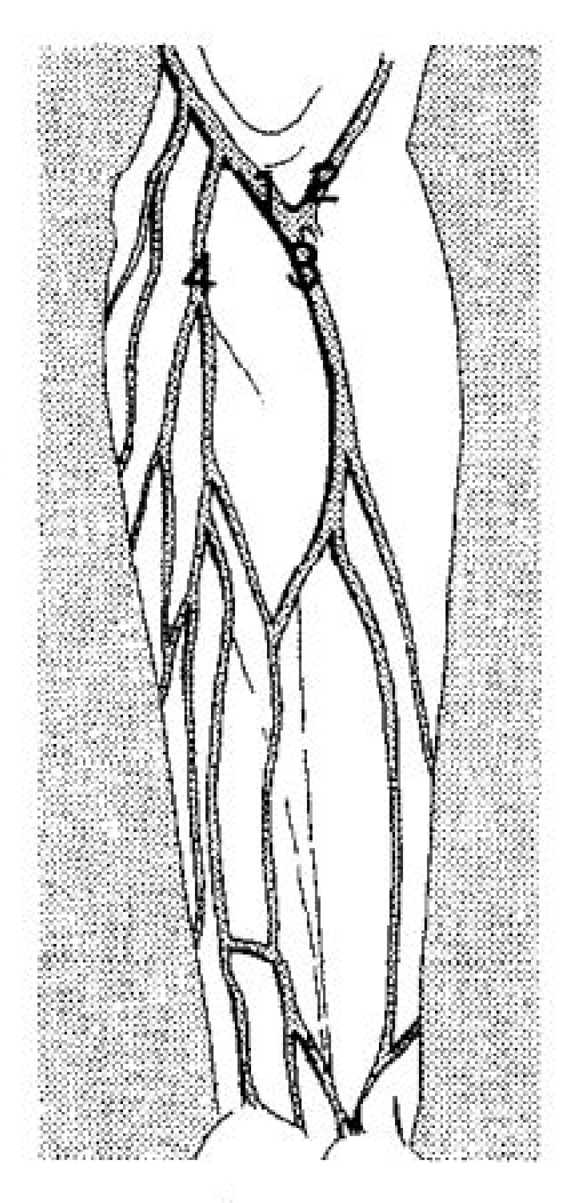


الشكل 9.9. أخذ الدم المريض في السرير.

الشكل 8.9. أخذ الدم من مريض في المختبر.

إذا كان المريض في السرير تُمَدَّد ذراع المريض في وضعية البَسْط (الشكل 9.9).

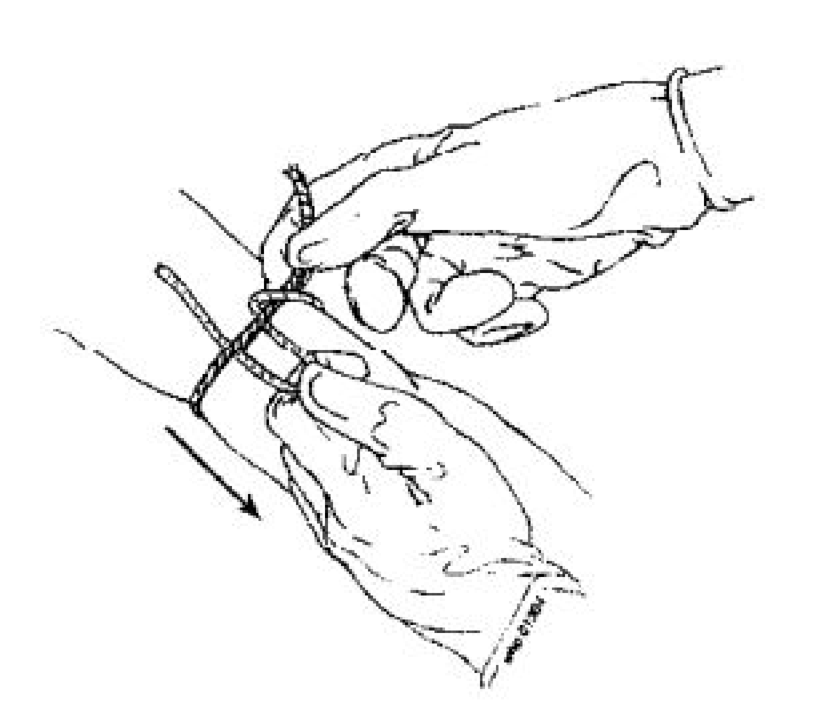
إن الموضع الصحيح لأخذ الدم هو الوريد الموجود في ثَنْيَة المِرْفَق في النقطة التي يكون فيها أثْخَن وأوضح ما يكون (الشكل 10.9)، ويُفَضَّل اختيار إحدى الشُّعَب التي تؤلف شكل Y فوق نقطة اتصالها مباشرة (1)، وإذا لزم فيمكن استعمال النقاط 2 و 3 و 4 بدلاً من النقطة 1.



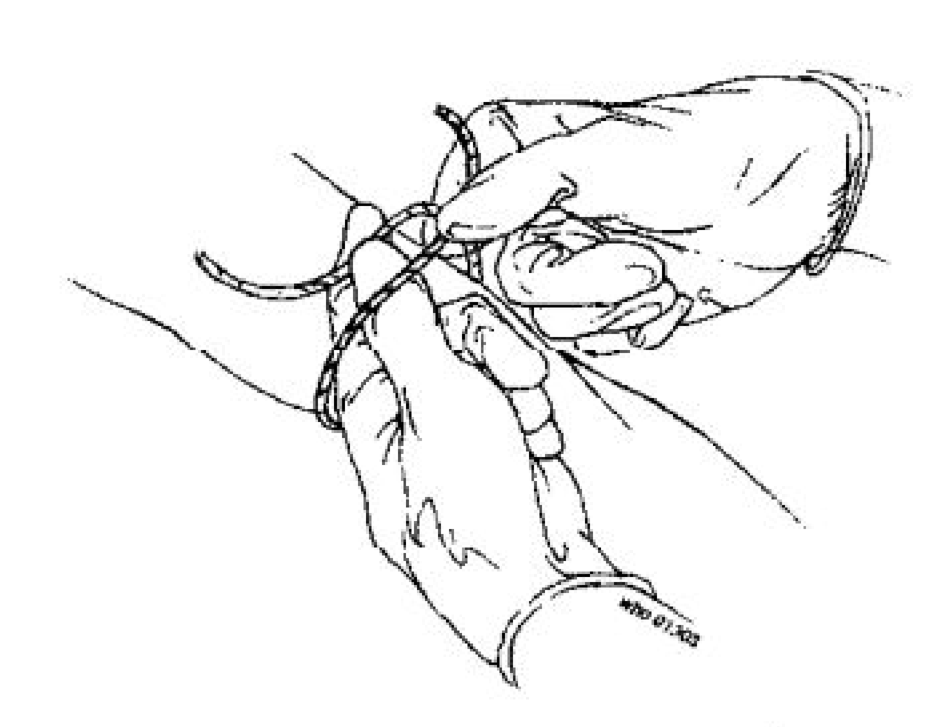
الشكل 10.9. مواضع أخذ الدم الوريدي:
1: الموضع المفضل؛
2،3،4: المواضع البديلة.

الإجراءات

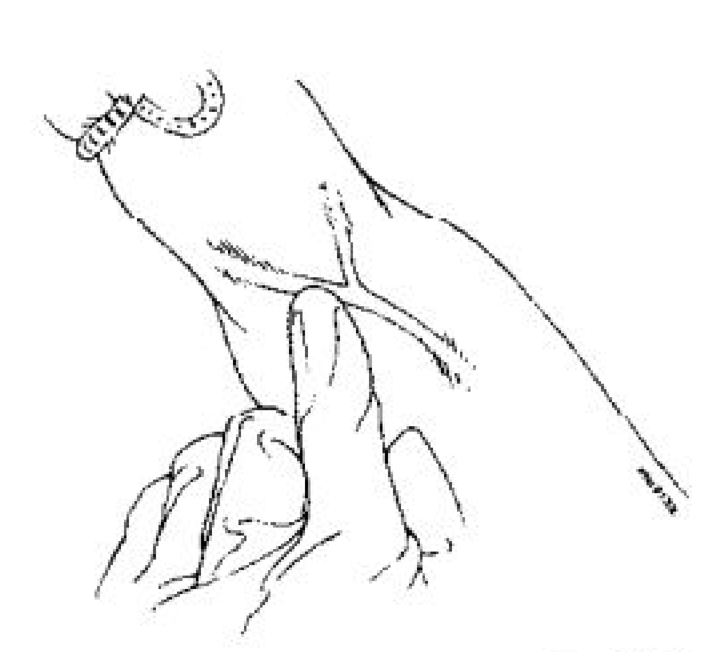
1. تُثَبَّت الإبرة على المحقنة على أن تُلْمَس قاعدة الإبرة فقط، وتُختَبَر الإبرة والمحقنة للتأكد من أن الإبرة ليست مسدودة وأن المحقنة مُحْكَمَة السَدّ.
   توضع نهاية الإبرة في الأنبوب المُعَقَّم لكي تكون جاهزة للاستعمال.
2. تُطَبَّق العاصبة: تُلَفُّ العاصبة باليد اليمنى لفّاً مُحْكَماً حول الذراع وتُمْسَك من نهايَتَيْها.
3. باليد اليسرى تُفْتَل إحدى النهايتين إلى الخلف (الشكل 11.9).
4. تُعْقَد أُنْشوطَه تحت الجزء الرئيسي من العاصبة (الشكل 12.9). وينبغي أن تكون العاصبة مشدودة إلى درجة تكفي لتبطيء جريان الدم وتوسيع الأوردة على أن لا تكون مشدودة كثيراً بحيث تُنْقِص جَرَيان الدم في الشرايين.
5. يُطلب إلى المريض أن يفتح قَبْضَتَهُ ويغلقها عدة مرات لتَنْتَبِجَ أوردتُه.



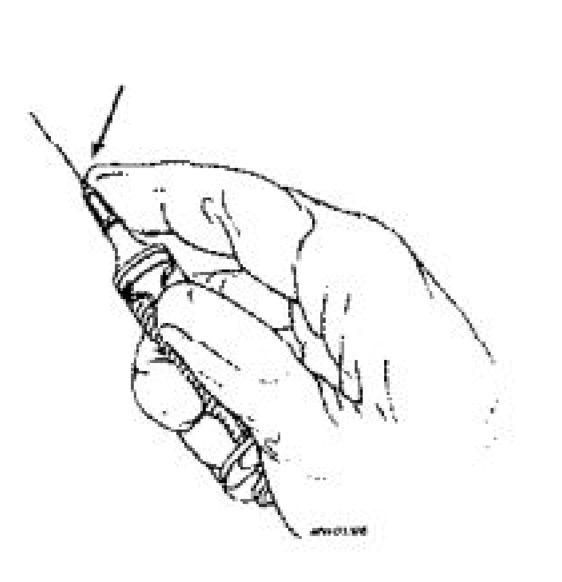
الشكل 12.9. ربط العاصبة.



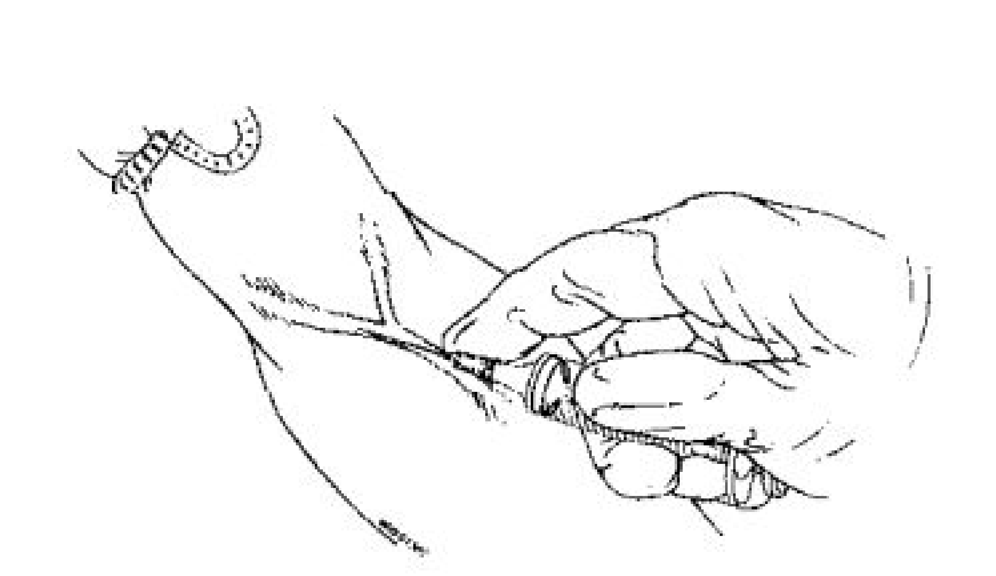
الشكل 11.9. تطبيق العاصبة.



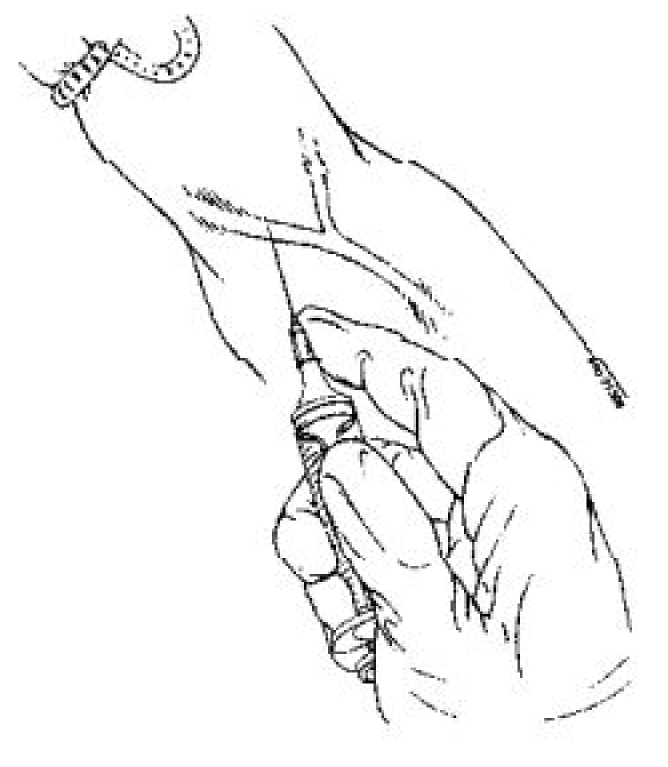
الشكل 13.9. تلمس الوريد.



الشكل 14.9. وضعية مسك المحقنة.



الشكل 15.9. الوضعية الصحيحة لبزل الوريد.



الشكل 16.9. وضعيات خاطئة لبزل الوريد.

6. تُستعمل سَبَّابَة اليد اليسرى لتَلَمُّس موضع الوريد الذي ستدخل فيه الإبرة (الشكل 13.9).
7. يُطَهَّر الجلد بقُطْنَة مغموسة في صبغة اليود أو الإيثانول.
8. تُمْسَك المحقنة باليد اليمنى مع وضع السبابة فوق قاعدة الإبرة (الشكل 14.9).
9. تحكم وضعية الإبرة بحيث تكون الحَلْقَة متجهةً إلى الأعلى، ثم يُجرى بزل الوريد بالدخول إلى مركز الوريد (الشكل 15.9) من دون تَرَدُّد.

ملاحظة هامة:

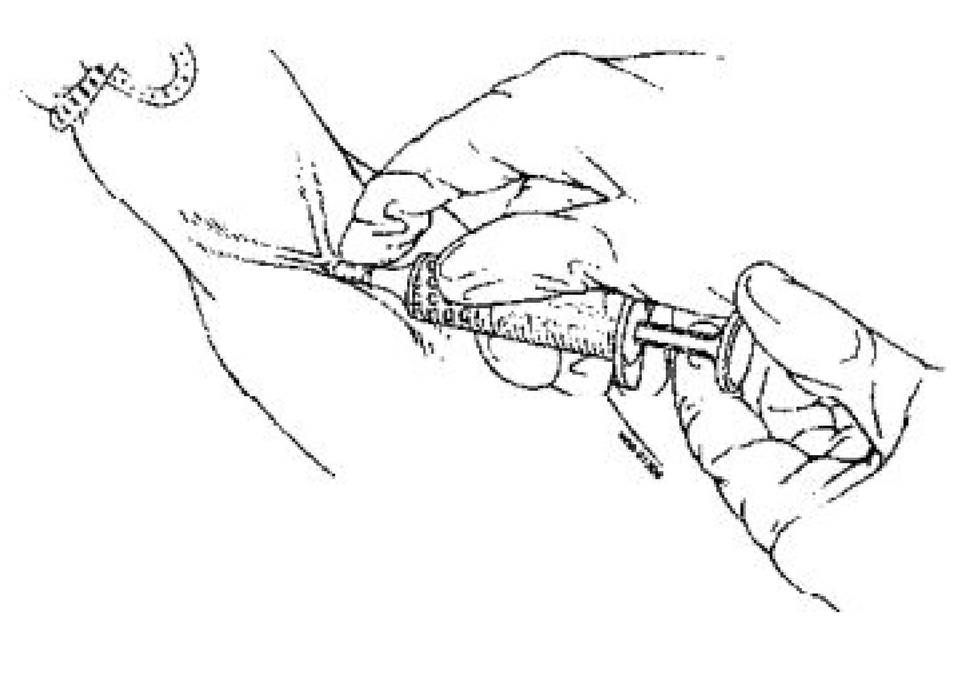
إياك ودخول الوريد من جانبه (الشكل16.9) .

سوف تشعر بالإبرة وهي تَخْتَرِق:

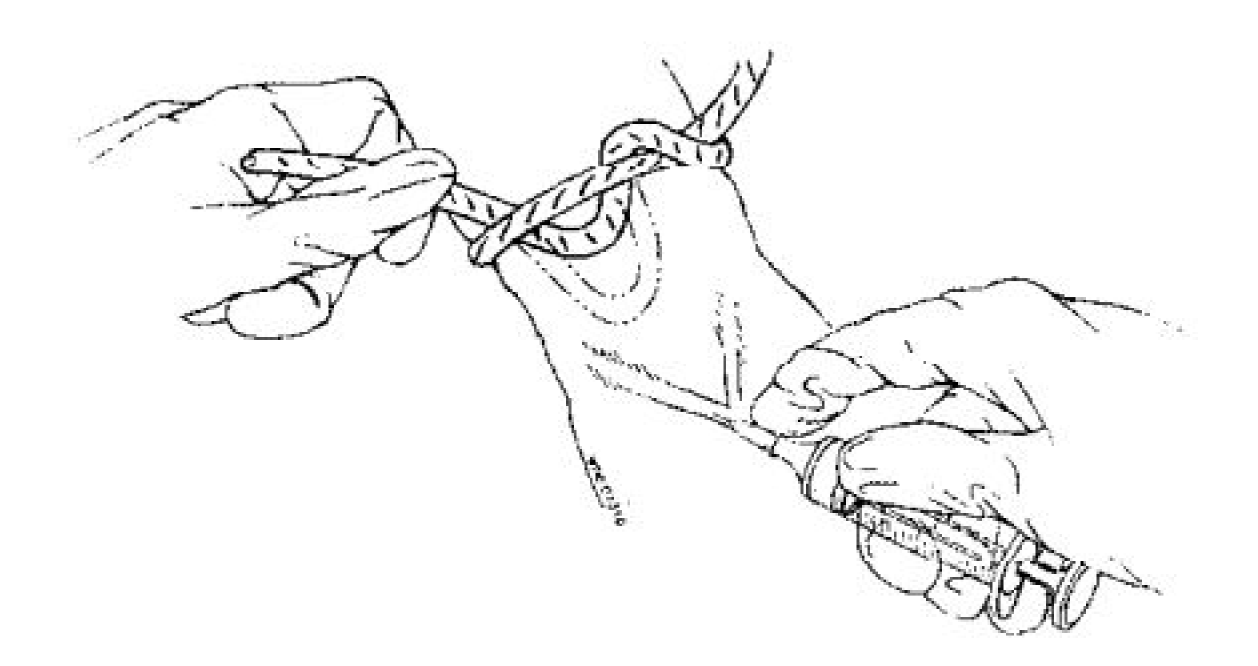
في البدء طبقة الجلد التي هي مُقاوِمَة؛

ثم جدار الوريد الذي هو أقل مقاومةً (أكثر مُطاوَعَةً).

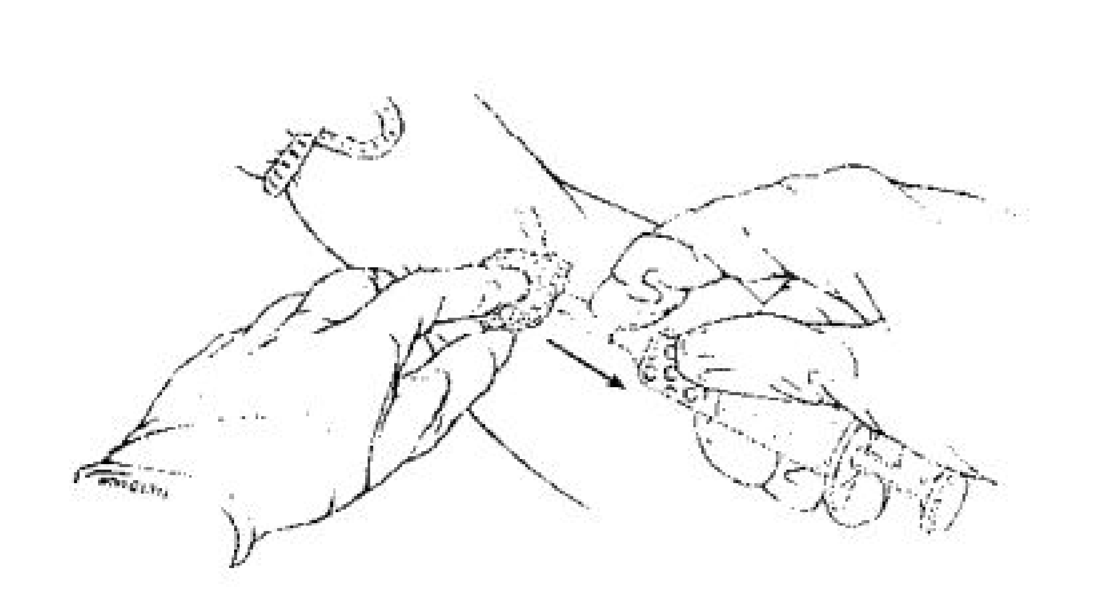
10. تُدْفَع الإبرة على مسيرة خط الوريد إلى عمق 1.0–1.5 سم.
11. باليد اليسرى يُسْحَب مِكْبَس المحقنة إلى الخلف ببطء فيظهر الدم في المحقنة (الشكل 17.9).
12. تُفَكّ العاصبة بشد طرف الأنشوطة، ثم يُثابَر على سحب المكبس إلى أن تمتلئ المحقنة بمقدار الدم المطلوب (الشكل 18.9).
13. تُطَبَّق قطنة جافة على النقطة التي أُدْخِلَت فيها الإبرة، ثم تُسْحَب الإبرة بحركة واحدة سريعة من تحت القطنة (الشكل 19.9).



الشكل 17.9. التحقق من أن الإبرة أُدْخِلت بشكل صحيح.



الشكل 18.9. ملء المحقنة بالدم.





الشكل 19.9. سحب الإبرة.

14. يطلب إلى المريض أن يضغط بثبات على القطنة مدة 3 دقائق، وهو ممْدُود الذراع (الشكل 20.9 a). ولا يوصى بثَنْي الذراع فوق القطنة (الشكل 20.9 b) (خشية خطر الورم الدموي).

15. تُنْزَع الإبرة من المحقنة.

تُملأ أنابيب أو قوارير النماذج بالدم حتى العلامة (الشكل 21.9).

تُقلَّب القوارير التي تحتوي على مضاد التخثر عدة مرات فوراً.

16. تُعَنْوَن القوارير بوضوح بما يلي:

– اسم المريض.

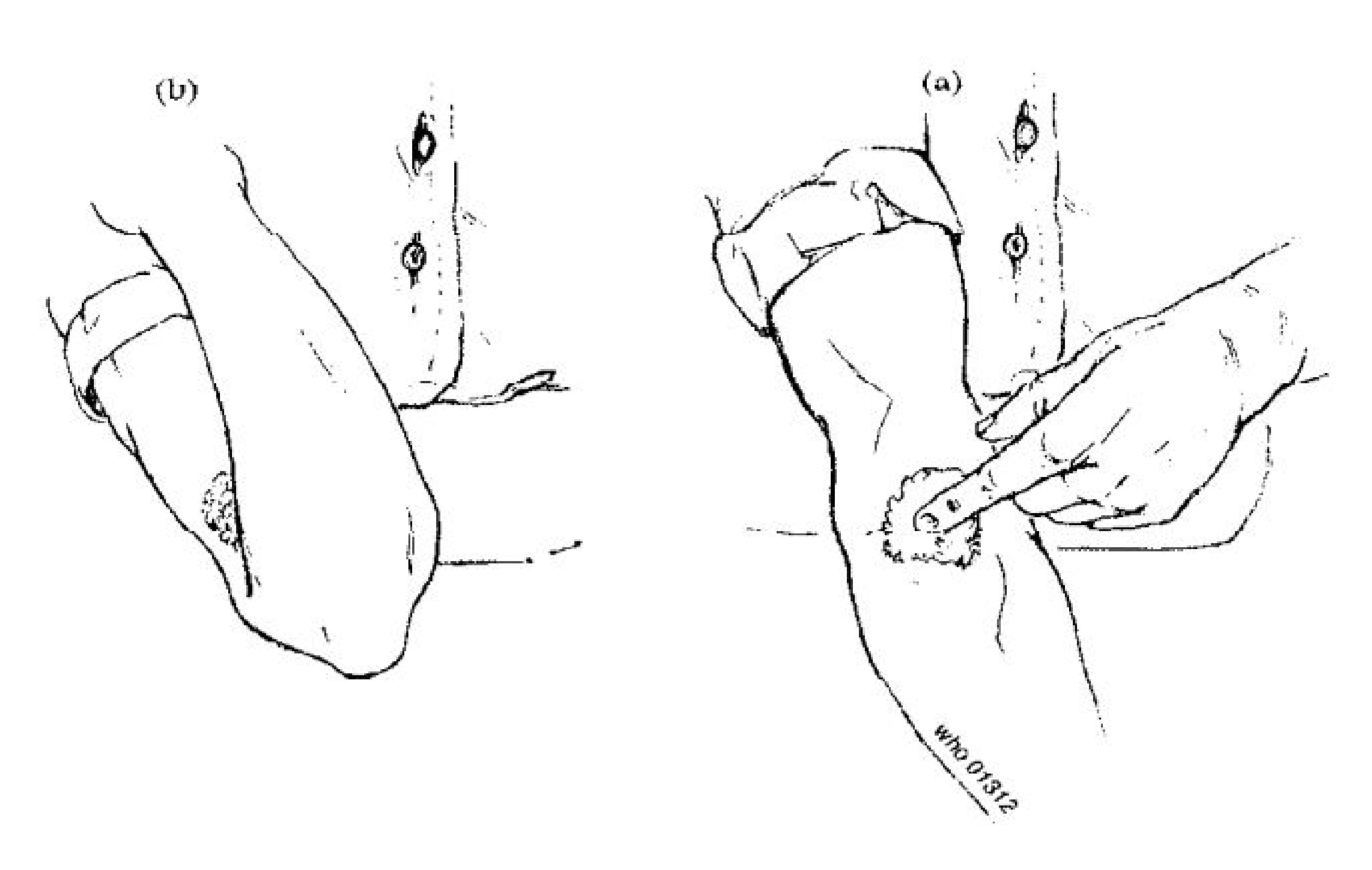
– التاريخ.

– رقم المريض في العيادة أو المستشفى إن وُجِد.

تُشْطَف الإبرة والمحقنة فوراً بالماء البارد، ثم تُشطف بمُطَهِّر (الفقرة 4.5.3).

توضع الإبر والمحاقن المشطوفة في أنابيب زجاجية صغيرة مسدودة بالقطن غير الماص وتُعقَّم في المُوصَدَة أو المُعَقِّمَة بالحرارة الجافة (الفقرة 5.5.3). إياك أن تستعمل إبرة أو محقنة لشخص آخر قبل أن يُعاد تعقيمها.

الإبر النبوذة تستعمل مرة واحدة فقط، إذ لايمكن تعقيمها.



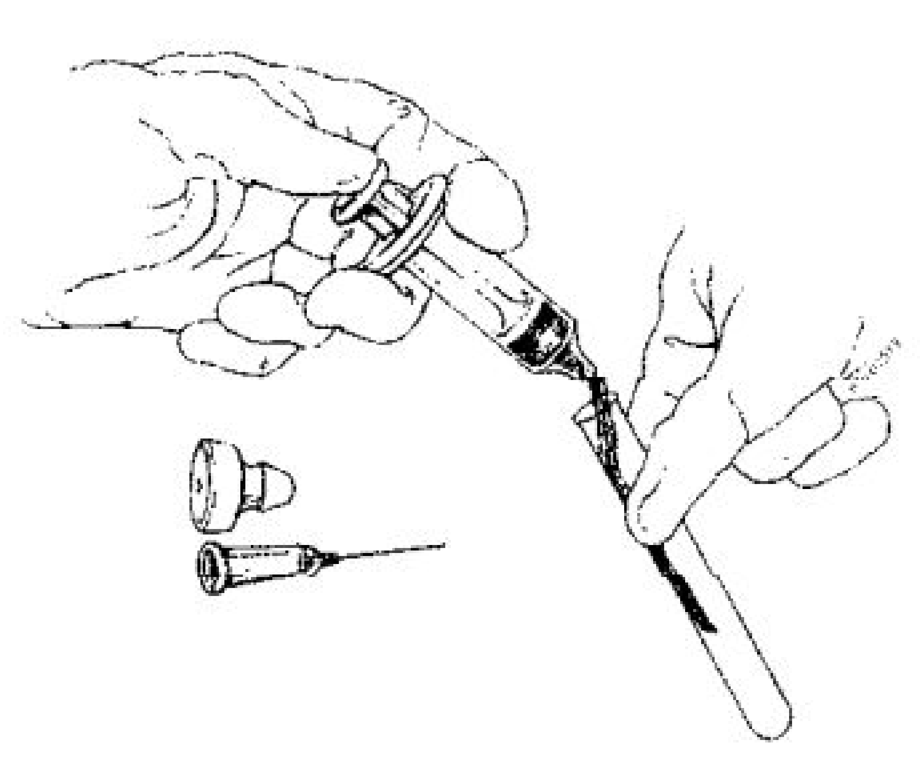
الشكل 20.9. الوضعيات الصحيحة (a) والخاطئة (b) لإيقاف جريان الدم.

3.9 تقدير تركيز الهيموغلوبين (خضاب الدم)

إن الهيموغلوبين هو الصباغ الأحمر الذى تحتوى عليه الكريات الحمر، وهو يتألف من سلاسل بروتينية وجزيئات تحتوي على الحديد.

وحدات القياس

إن الوحدة الإسوية SI (النظام الدولي) للتعبير عن تراكيز الهيموغلوبين هي الميليمول باللتر (ممول/ل) حصْراً، وعندما تُستعمل هذه الوحدة فمن الضروري تعيين البنية الكيميائية التي تنطبق عليها وهذا يعني من الوجهة العملية أن تعبير "حديد الهيموغلوبين (Fe)" ينبغي أن يُستعمل بدلاً من التعبير البسيط "حديد الهيموغلوبين". ومهما يكن من أمر فإن بعض المختبرات ـ قبل إجراء التبديل إلى الميليمول باللتر ـ تستعمل كقياس مرحلي وحدةً „الغرام باللتر" (غ/ل)، وعندما تُستعمل هذه الوحدة فإن التعبير البسيط "الهيموغلوبين" يكفي ولا داعي للتحدث عن "حديد الهيموغلوبين (Fe)" ثم إن القيم المقدرة بالغرام باللتر يمكن تحويلها إلى قيم مقدارة بالميليمول باللتر بضربها بالرقم 0.062.



الشكل 21.9. نقل الدم إلى أنبوب النموذج.

مثال:

الهيموغلوبين 150 غ/ل × 0.062 = حديد الهيموغلوبين 3.9 ممول/ل.

وفي هذا الكتاب سوف تُجرى الحسابات ويُعبَّر عن القيم بكلا الشكلين، وينبغي أن يُلاحَظ أنه إذا استعملت وحدة „الغرام باللتر" فإن القيم تكون أكبر بعشر مرات من القيم بالوحدة التقليدية „غرام في 100 مل"، مثلاً: 150 غ/ل = 15.0 غ/100مل.

1.3.9 طريقة المقياس الضوئي لمعايرة سيانيد الهيميغلوبين

المبدأ

يُخفَّف الدم بسائل تخفيف درابكين الذي يحل الكريات الحمر ويحول الهيموغلوبين إلى سيانيد الهيميغلوبين (السيانميتهيموغلوبين)، ويُفحص المحلول الناتج بمقياس اللون (أو مقياس الطيف الضوئي) إذ يكون تَماصُّه absorbance متناسباً مع مقدار الهيموغلوبين في الدم.

الطريقة الكَهْرَضَوْئِيَّة لمعايرة سيانيد الهيميغلوبين هي الطريقة الأكثر مضبوطية لتقدير الهيموغلوبين، وينبغي أن تُستعمل كلما أمكن ذلك.

المواد والكواشف

- مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني)[1]
- كُفَيْتات لمقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني)
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- مِمَصّات دم (نمط ساهْلِي)، 0.2 مل
- سائل تخفيف درابكين (الكاشف رقم 21)
- محلول مرجعي، ويمكن أن يكون:
  - محلول سيانيد الهيميغلوبين المرجعي الطازج المستعمل لتَعْيير الأداة
  - محلول مرجعي سبق تَعْييرُه مقابل محلول سيانيد الهيميغلوبين المرجعي
  - عينة دم ذات تركيز معلوم للهيموغلوبين.

ينبغي تحضير منحنى تَعْيير قبل استعمال مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني) لتقدير الهيموغلوبين، ومن هذا المنحنى يمكن رسم خط بياني وجدول لقيم الهيموغلوبين.

[1] إن بعض مقاييس اللون أو مقاييس الطيف الضوئي يمكن أن تُشَغَّل على التيار الكهربائي الرئيسي أو على تيار من بطارية السيارة. ومن هذه المقاييس ذلك النموذج الذي تزود به اليونيسيف برقم مرجعي 09.309.98 (110 فولط–بطارية) أو 09.310.00 (220 فولط–بطارية)، ويمكن أن يطلب من العنوان التالي:

.UNICEF، UNICEF Plads، Freeport، DK 2100 Copenhagen، Denmark

ملاحظة هامة:

في بداية كل يوم:

- تُنظّف أنابيب القراءة (أو الكُفَيْتات) في مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني).
- يُملأ أحد الأنابيب النظيفة بمحلول تخفيف درابكين الطازج، ويستعمل لضبط صفر المقياس اللوني.
- يُقرَأ محلول مرجعي (انظر أعلاه).

طريقة تعيير مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني) باستعمال محلول سيانيد الهيميغلوبين المرجعي (أو محلول مرجعي سبق تَعييرُه مقابل محلول سيانيد الهيميغلوبين المرجعي)

1. تُحسَب قيمة الهيموغلوبين في المحلول المرجعي مقدرة بالغرام باللتر باستعمال الصيغة التالية:

$$\frac{\text{التركيز بالـ مغ/100 مل} \times 10^{(أ)}}{1000^{(ج)}} \times 251^{(ب)}$$

حيث:

أ = عامل تحويل 100 مل إلى 1 لتر؛

ب = عامل التخفيف عندما يُخَفَّف 0.02 مل من الدم بـ 5 مل من سائل تخفيف درابكين؛

ج = عامل تحويل الميليغرام إلى غرام.

ولما كان 10 × 1000/251 قريبة جداً من 2.5 فإن الصيغة الآنفة الذكر يمكن تبسيطها على الوجه التالي[1]:

قيمة الهيموغلوبين في المحلول المرجعي مقدرةً بالغرام باللتر= التركيز مقدراً بالـ مغ/100 مل × 2.5

مثال:

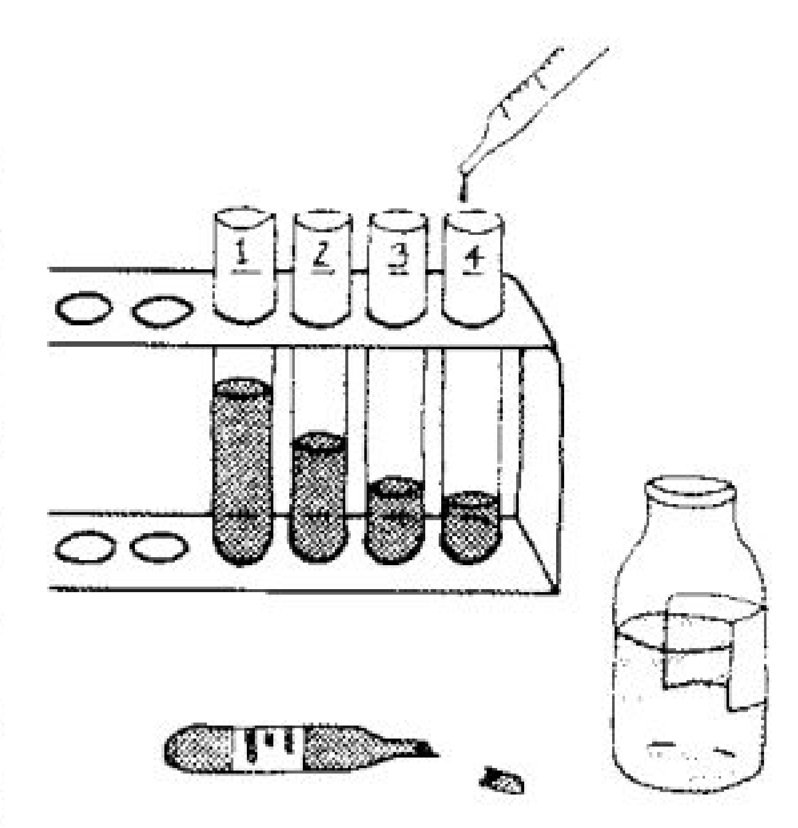
تركيز المحلول المرجعي = 60 مغ/100 مل.

قيمة الهيموغلوبين = 60 × 2.5 = 150 غ/ل.

2. تُحضَّر سلسلة من التخفيفات للمحلول المرجعي في 4 أنابيب اختبار (مُعَنْوَنَة من 1 إلى 4) (الشكل 22.9)، فيُنْقَل بالممص إلى كل أنبوب المقدارُ المُبَيَّن في الجدول 1.9.
3. تُمزَج محتويات الأنابيب وتُترَك 5 دقائق (الشكل 23.9).
4. تُقرَأ التخفيفات في مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني):

(أ) يُضْبَط طول موجة مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني) على 540 نانومتر (نم) أو توضع مرشحة خضراء في المقياس اللوني.

(ب) يُملأ أنبوب مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني) أو الكُفَيْت بمحلول درابكين ويوضع في المقياس اللوني



الشكل 22.9. تحضير تخفيفات متسلسلة من محلول سيانيد الهيميغلوبين المرجعي.

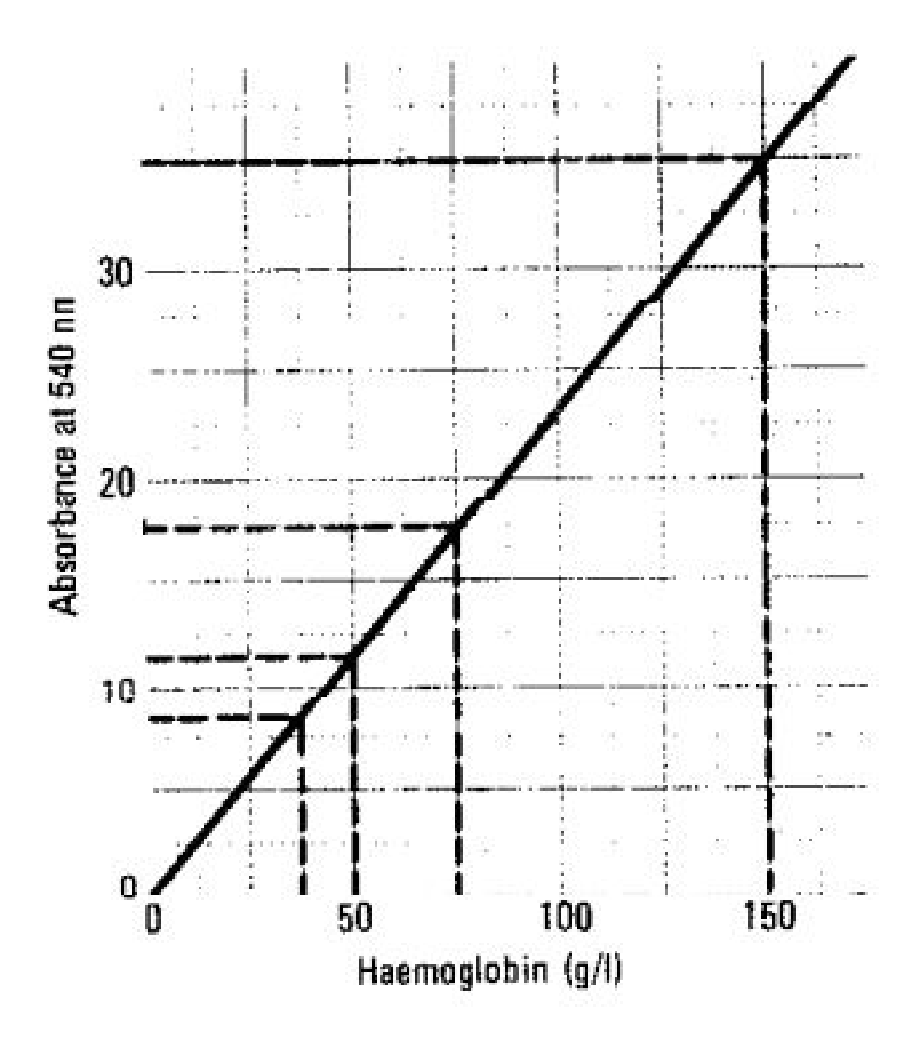
الجدول 1.9. تحضير تخفيفات سلسلية للمحلول المرجعي.

رقم الأنبوب	حجم المحلول المرجعي (مل)	حجم سائل تخفيف درابكين (مل)	التخفيف
1	4.0	0.0	غير مخفف
2	2.0	2.0	2:1
3	1.3	2.7	3:1
4	1.0	3.0	4:1

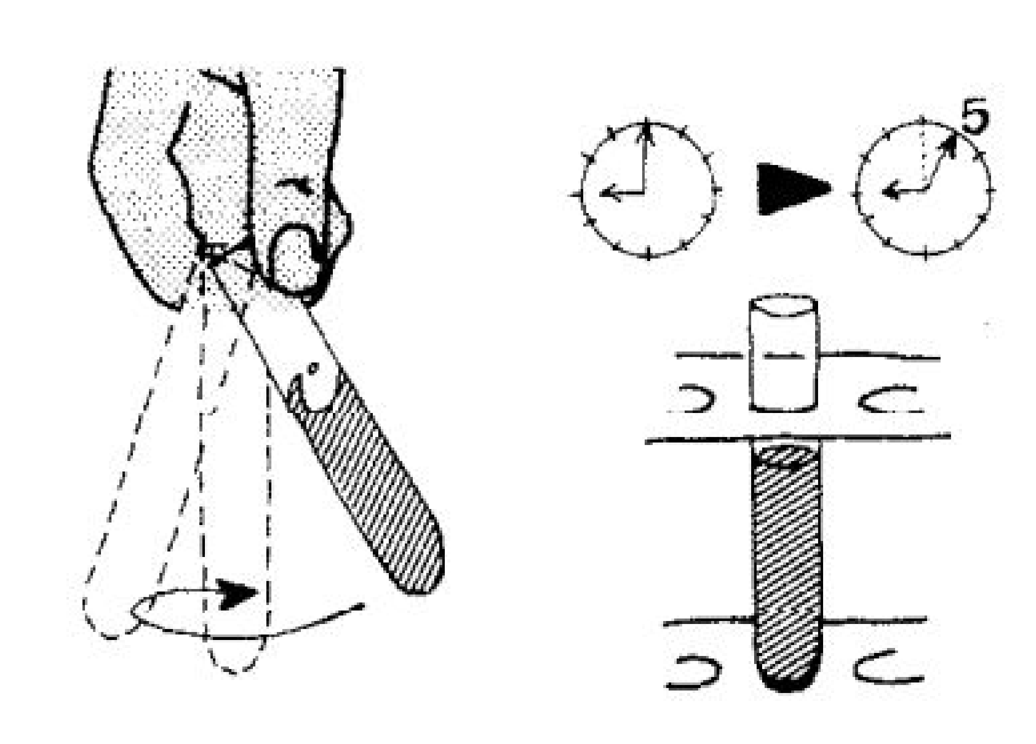
[1] إذا استعمل تخفيف 200:1 (أي 0.02 مل من الدم و4 مل من سائل تخفيف درابكين) يُضرَب بالرقم 2.0 بدلاً من 2.5.

الجدول 2.9. قراءات عينات مقياس الطيف الضوئي للتخفيفات المختلفة للمحلول المرجعي

التخفيف	تركيز الهيموغلوبين (غ/ل)	التماص في 540 نم
غير مخفف .	150	35.0
2:1	75 = 2 ÷ 150	17.5
3:1	50 – 3 : 150	11.5
4:1	37.5 = 4 ÷ 150	8.5



الشكل 24.9. المنحنى المعياري لتعيين تركيز الهيموغلوبين لنماذج الدم.



الشكل 23.9. ترك تخفيفات المحلول المرجعي لمدة 5 دقائق بعد المزج

(ج) يُضْبَط صفر مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني).

(د) تُقرَأ محتويات الأنابيب من 1 إلى 4 باستعمال أنبوب المقياس اللوني أو الكُفَيْت.

يجب التأكد من أن الإبرة تعود إلى الصفر بين كل قراءتَيْن بسائل تخفيف درابكين.

5. يُهَيَّأ مخطط بياني بالخَطاط (تعيين موقع نقطة في منطط) قراءات المقياس اللوني للمحاليل المرجعية المُخَفَّفَة في مقابل تراكيزها الموافقة من الهيموغلوبين (الجدول 2.9 والشكل 24.9).

6. من المخطط البياني يُعمل جدول بقيم الهيموغلوبين من 20 إلى 180 غ/ل.

طريقة تعيير مقياس الطيف الضوئي (المقياس اللوني) باستعمال عينة دم ذات تركيز معلوم للهيموغلوبين

1. يُحْصَل على عينة دم ذات تركيز معلوم للهيموغلوبين (مثل 168 غ/ل).
2. يُشَغَّل مقياس اللون ويوضع على طول الموجة 540 نم.
3. يُمَصّ 8 مل من سائل تخفيف درابكين إلى أنبوب اختبار، ويضاف 0.04 مل من الدم الممزوج جيداً. يجب التأكد من مسح ظاهر المِمَصّ مسبقاً لتجنب إضافة فائض من الدم. يُمزج محلول سيانيد الهيميغلوبين بتقليبه عدة مرات، ثم يُترك الأنبوب لمدة 10 دقائق.
4. يُضْبَط صفر المقياس اللوني باستعمال سائل تخفيف درابكين.
5. يُقرَأ ويُسَجَّل تماص محلول سيانيد الهيميغلوبين المُحَضَّر آنفاً.
6. تُحَضَّر سلسلة من تخفيفات محلول سيانيد الهيميغلوبين في 4 أنابيب اختبار (مُعَنْوَنَة من 1 إلى 4) كما يبدو في الجدول 3.9.
7. يُقرأ ويُسَجَّل تماص كلٍّ من المحاليل المخففة.

الجدول 3.9. تحضير تخفيفات سلسلية لمحلول سيانيد الهيميغلوبين.

رقم الأنبوب	حجم محلول سيانيد الهيميغلوبين (مل)	حجم سائل تخفيف درابكين (مل)	تركيز الهيموغلوبين[أ] (غ/ل)
1	4.0	1.0	13.4
2	3.0	2.0	10.1
3	2.0	3.0	6.7
4	1.0	4.0	3.4

أ في هذا المثال افْتُرِضَ أن تركيز الهيموغلوبين لمحلول سيانيد الهيميغلوبين هو 168 غ/ل.

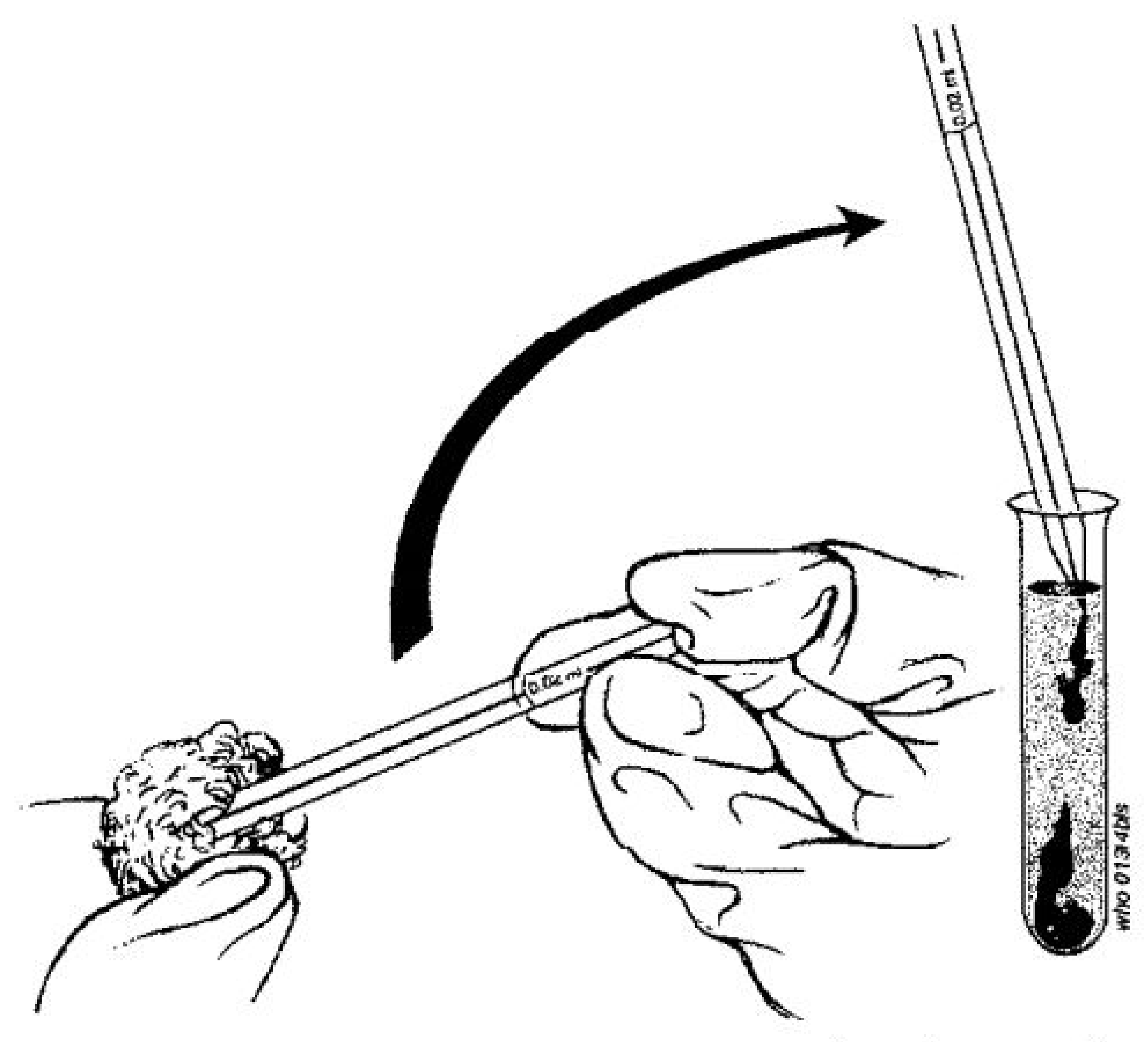
8. يُخَطُّ مخطط بياني للتماص مقابل تركيز الهيموغلوبين باستعمال ورق المخططات البيانية العادي، فيُرْسَم خط مستقيم بدءاً من المنشأ ماراً أقرب ما يمكن إلى كل نقطة، ثم يُمَدَّد بحيث يمكن قراءة التماص لكلٍّ من قيم الهيموغلوبين التي هي أكبر من 168 غ/ل.
   - يُحَضَّر جدول مرجعي للقيم باستعمال المخططات البيانية المحصول عليها مما سبق:
   - يُرسم جدول لقراءات التماص ابتداءً من 0.00 و 0.01 و 0.02 وانتهاءً بـ 1.50.
   - يَعَيَّن تركيز الهيموغلوبين لكل تماص من المخطط البياني.

تحذيرات:

- سيانيد البوتاسيوم سام جداً ويجب حفظه في خزانة مقفلة في كل الأوقات التي لا يُستعمل فيها، كما يجب غسل اليدين فوراً بعد معاملته.
- يُختزن سائل تخفيف درابكين في قارورة بنية للكواشف لأنه يتفكك لدى التعرض للضوء، وإذا لم تتوافر قارورة بنية للكواشف تُستعمل قارورة زجاجية صافية ملفوفة بعناية برقاقة معدنية فضية. ويجب أن يكون سائل درابكين رائقاً وبلون أصفر شاحب. فإذا أصبح عكراً فقد لونه ويجب إعادته. ويمكن التحقق من رَوْق (صفاء) سائل التخفيف بقياس تماصه في مقياس اللون لمحلول مرجعي، ويمكن أن يكون في الموجة 540 نم مقابل الماء ككفيء، إذ يجب أن تكون قراءة التماص صفراً.
- حالما يتم تحضير محلول سيانيد الهيميغلوبين يجب إجراء تقدير الهيموغلوبين خلال 6 ساعات.
- يبقى سائل تخفيف درابكين ثابتاً لبضعة أشهر عندما يُختزن في حرارة باردة، فإذا تجاوزت حرارة الغرفة 30 س يُختزن في الثلاجة بحرارة 4–6°س، ويجب ألا يوضع في الجَمَّادَة لأن ذلك قد يسبب تفكك المُرَكَّب. يُترك سائل التخفيف دوماً كي يدفأ إلى حرارة الغرفة قبل الاستعمال.

الطريقة

1. يُمَصّ 5 مل من سائل تخفيف درابكين ويوضع في أنبوب؛ ثم يُسْحَب الدم الوريدي أو الشُّعَيْري إلى العلامة 0.02 في مِمَصّ الدم (نمط ساهْلي)، ولا يُسْمَح لفقاقيع الهواء بأن تدخل. وينبغي التأكد من أن الدم الوريدي قد مُزِجَ جيداً بتقليب القارورة المحتوية عليه مع مضاد التخثر بشكل متكرر لمدة دقيقة واحدة تقريباً قبل المص منه مباشرةً.
2. يُمْسَح ظاهر الممص، ويُتَحَقَّق من أن مستوى الدم لا يزال عند العلامة 0.02 مل (الشكل 25.9)؛ ثم تُعْصَر الكمثراة المطاطية للممص لإفراغ الدم في سائل تخفيف درابكين، ويُشْطَف المِمَصّ 3 مرات بسحب السائل من الأنبوب إليه ونَفْخه منه خارجاً.
3. تُمزج محتويات الأنبوب ويُترك لمدة 5 دقائق (الشكل 23.9).



الشكل 25.9. التأكد من أن الدم ما زال عند العلامة.

4. يُضْبَط صفر المقياس اللوني باستعمال سائل تخفيف درابكين، ثم يُقرأ تماص دم المريض المُخَفَّف في أنبوب المقياس اللوني أو الكُفَيْت.

وإذا ظهر عكر في الدم المخفف فقد يكون مَرَدُّه إلى بروتينات شاذة في البلازما أو إلى تركيز مرتفع من الكريات البيض، وإذ ذاك يُنبَّذ الدم المخفف بقوة نابذة 2000 جاذبية لمدة 5 دقائق قبل أخذ القراءة.

يُستعمل الجدول الذي سبق إعدادُه من منحنى التعيير لتسجيل تركيز الهيموغلوبين مقدراً بالغرام/اللتر (غ/ل).

المجال المرجعي

يبدي الجدولُ 4.9 المجالاتِ المرجعيةَ للفئات العُمْرِيَّة المختلفة.

الجدول 4.9. تراكيز الهيموغلوبين السوية بحسب الفئة العمرية

الفئة العمرية	تركيز حديد الهيموغلوبين (Fe) (ممول/ل)	تركيز الهيموغلوبين (غ/ل)
الولدان	12.1–8.4	196–136
الرضع (1سنة)	8.1–7.0	130–113
الأطفال (10–12 سنة)	9.2–7.4	148–115
النساء	9.9–7.4	160–120
الرجال	11.2–8.1	180–130

2.3.9 طريقة الهيماتين د القلوي

المبدأ

عندما يضاف نموذج دم إلى محلول قلوي يحوي منظف غير أيوني (غير شاردي) فإن الهيموغلوبين يتحول إلى هيماتين د ـ 575 قلوي وهو مركب لوني ثابت. وإن امتصاص هيماتين د ـ 575 القلوي يقاس باستخدام مقياس الهيموغلوبين أو مقياس لوني. وإن مقياس الطيف الضوئي ومقياس الهيموغلوبين يحددان مباشرة تركيز الهيموغلوبين في عينة الدم، بينما باستخدام المقياس اللوني فإن تركيز الهيموغلوبين في العينة يمكن الحصول عليه من الامتصاص باستخدام منحنٍ معياري أو جدول قيم.

إن طريقة الهيماتين د القلوي (AHD) ذات ميزات كثيرة مقارنة بطريقة سيانيد الهيموغلوبين:

إنها بذات الدقة ولكنها أقل كلفة.

إن إجراء المعايرة باستخدام الكلور هيمين وهو مركب بلوري ثابت ، متوافر تجارياً .

لايحوي كاشف الهيماتين د القلوي AHD على سيانيد البوتاسيوم الشديد السمية على العكس من محلول تخفيف درابكين في طريقة سيانيد الهيموغلوبين.

يمكن تحضير كاشف الهيماتين د القلوي AHD باستعمال مواد كيميائية متوافرة محلياً .

المواد والكواشف

- مقياس طيف ضوئي، مقياس هيموغلوبين أو مقياس لوني.
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- سدادات من الفلين أو المطاط
- كفيتات
- قلم شحمي
- قطن أو شاش
- هيماتين د القلوي AHD معياري (يزود من مختبر مركزي)
- كاشف الهيماتين د القلوي AHD (الكاشف رقم 8)

معايرة مقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين

1. يلاحظ تركيز الهيماتين د القلوي AHD المعياري الموجود على اللصاقة، فمثلاً 160 غ/ل في تخفيف 1: 150
2. يمص 20 مكل من الهيماتين د القلوي AHD المعياري إلى أنبوب اختبار نظيف يحوي 3مل من كاشف هيماتين د القلوي AHD .
3. يسد أنبوب الاختبار بواسطة سدادة من الفلين أو المطاط ويمزج الأنبوب بالقلب. يترك الأنبوب مدة 2–3 دقائق.
4. يملأ كفيت نظيف بكاشف الهيماتين د القلوي AHD غير مخفف. يجفف القسم الخارجي من الكفيت بالقطن والشاش ويوضع في حجيرة الكفيت .يضبط مقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين على الرقم صفر (كفيء) .
5. يستبدل كاشف الهيماتين د القلوي AHD غير المخفف في الكفيت بمحلول الهيماتين د القلوي AHD المعياري المخفف، يكرر إجراء القياس ويضبط مقياس الطيف الضوئي ومقياس الهيموغلوبين لقراءة الهيموغلوبين الصحيح المشار إليه على اللصاقة (مثل 160 غ/ل) .

معايرة المقياس اللوني

1. يشغل المقياس اللوني ويوضع طول الموجة على 540 نم. يترك المقياس اللوني ليدفأ حسب الوقت المقترح من قبل المصنع.
2. توضب ستة أنابيب اختبار في رفوف الأنابيب وتعنون 1 ، 2 ، 3 ، 4 ، ب ، ن .
3. يمص 5 مل من كاشف الهيماتين د القلوي AHD إلى أنبوب الاختبار ب .
4. يمص 3 مل من كاشف الهيماتين د القلوي AHD و 20 مكل من الهيماتين د القلوي AHD المعياري إلى أنبوب الاختبار ن.
5. يخفف المحلول المرجعي في الأنبوب ن كما وصف في الجدول 5.9.
6. تمص الحجوم المشار إليها من كاشف الهيماتين د القلوي AHD والمحلول المرجعي إلى أنابيب الاختبار 1إلى 4 ، ويسد كل أنبوب ويمزج بالقلب.
7. تحسب تركيزات الهيموغلوبين في أنابيب الاختبار كما يلي :

تركيز الهيموغلوبين = تركيز المحلول المرجعي X عامل التخفيف

مثال :

أنبوب ن : 160 غ Hb/ل

أنبوب 1 : 160 غ Hb/ل X4÷5 = 128 غ Hb/ل

أنبوب 2 : 160 غ Hb/ل X3÷5 = 96 غ Hb/ل

أنبوب 3 : 160 غ Hb/ل X2÷5 = 64 غ Hb/ل

أنبوب 4 : 160 غ Hb/ل X1÷5 = 32 غ Hb/ل

أنبوب ب : 0 غ Hb/ل

8. يصب كاشف الهيماتين د القلوي AHD من أنبوب الاختبار ب في الكفيت النظيفة. يجفف القسم الخارجي من الكفيت بالقطن والشاش ويوضع في حجيرة الكفيت. يضبط مقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين على الرقم صفر (كفيء) .
9. يوضع كاشف الهيماتين د القلوي AHD في الكفيت مع المحلول المرجعي من الأنبوب 4 . يسجل الامتصاص ويعاد صب المحلول إلى الأنبوب 4.
10. يعاد الإجراء باستخدام الأنابيب 3 ، 2 ، 1 ، ن على التوالي .
11. يرسم مخطط لقيم الامتصاص مقابل تراكيز الهيموغلوبين (غ/ل) لعينات الاختبار والعينات المعيارية (الأنابيب ن ، 1 – 4 على التوالي) (الشكل 26.9). من البداية يرسم خط مستقيم يمر عبر أكبر عدد ممكن من النقاط.

ملاحظة: يحضر دائماً مخطط معياري جديد كلما استخدم مقياس لوني مختلف أو نوع كفيت مختلف أو طريقة قياس هيموغلوين مختلفة .

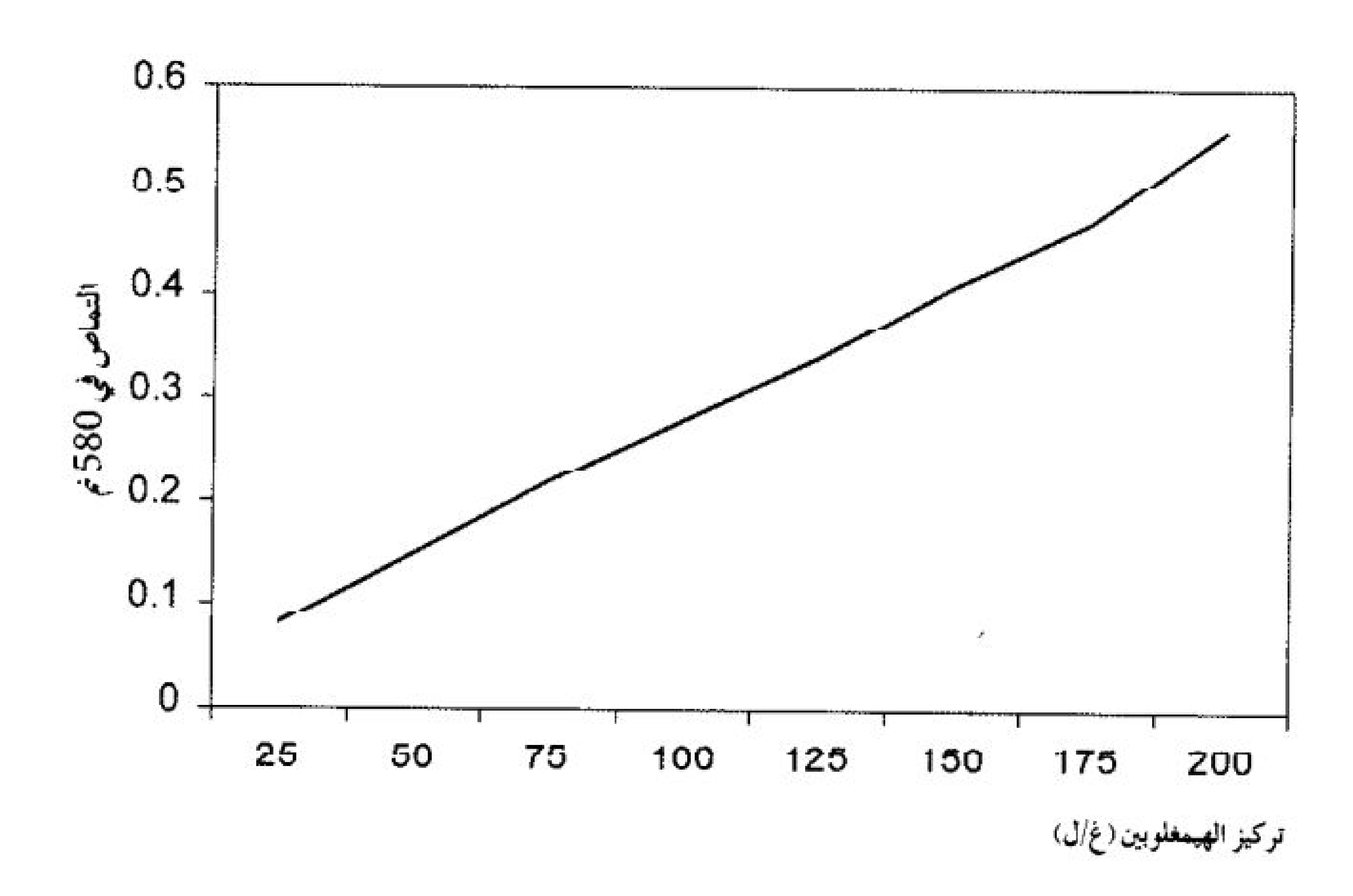
الطريقة

الطريقة المستخدمة لمقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين

1. يشغل مقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين. يترك المقياس اللوني ليدفأ حسب الوقت المقترح من قبل المصنع.

الجدول 5.9 تحضير تخفيفات متسلسلة من محلول الهيماتين د القلوي AHD مرجعي لمعايرة المقياس الضوئي

أنبوب اختبار	1	2	3	4
كاشف الهيماتين د القلوي AHD (مل)	1	2	3	4
محلول الهيماتين د القلوي AHD مرجعي (مل)	4	3	2	1
الحجم الكلي (مل)	5	5	5	5



الشكل 26.9. منحنى معايرة للتعرف على تركيز الهيمغلوبين

2. توضب أنابيب الاختبار على الرفرف : أنبوب لكل عينة ، وأنبوب للكفيء وأنبوبان لعينات الشاهد.
3. باستعمال قلم شخصي تعنون الأنابيب بأرقام العينات المقاسة حسب المختبر، د، الكفيء ، ش1 ، ش2 للعينات الشاهد.
4. يمص 3مل من كاشف الهيماتين د القلوي AHD إلى كل أنبوب.
5. يمص 20 مكل من الدم المأخوذ في الأديتات ويوضع في أنبوب كاشف الهيماتين د القلوي AHD. يمزج كاشف الهيماتين د القلوي AHD في الممص بعناية خمس مرات.
6. يمص 20 مكل من الهيماتين د القلوي AHD المعياري إلى الأنابيب ش1 ، ش2.
7. تسد كافة أنابيب الاختبار بالفلين أو مطاط وتمزج بالقلب. تترك الأنابيب لمدة 2–3 دقائق.
8. يصب محلول الهيماتين د القلوي AHD من الأنبوب ب إلى الكفيت النظيفة. ويجفف خارج الكفيت بقطن أو شاش . ويجب التأكد من عدم وجود فقاعات هواء في المحلول . توضع الكفيت في حجيرة الكفيت ويضبط مقياس الطيف الضوئي أو مقياس الهيموغلوبين على الرقم صفر.
9. يعاد الإجراء مع المحلول في الأنابيب ش1 ، ش2 على التوالي . إذا اختلفت قراءات الشاهدين بأقل من 2.5 % يقاس تركيز الهيموغلوبين في كل العينات . تسجل كافة النتائج

الطريقة المستخدمة للمقياس اللوني

يمكن تطبيق طريقة الهيماتين د القلوي AHD باستخدام مقياس لوني. وإن إجراء القياس هو ذات ما ذكر لمقياس الطيف الضوئي ومقياس الهيموغلوبين ولكن الامتصاص في المقياس اللوني لا يزداد بشكل خطي بارتفاع تراكيز الهيموغلوبين. يجب استخدام منحنى معياري لربط قراءات الامتصاص بتركيز الهيموغلوبين كما وصف سابقاً.

النتائج

تسجل النتائج بـ غ/ل . مثال : الهيموغلوبين = 89 غ/ل

أخطاء في تقدير الهيموغلوبين

أخطاء أخذ العينة

- جريان دم قليل من الأصبع الموخوزة
- عصر زائد للأصبع بعد الوخز
- استخدام مطول للعاصبة عند جمع الدم الوريدي مسبباً تركيز كريات الدم.
- مزج غير كاف للدم الوريدي مسبباً تثفله بعد الأخذ.
- جلطات صغيرة في الدم الوريدي بسبب مزج غير ملائم مع الأديتات بعد الأخذ.
- إضافة دم قليل أو زائد إلى محلول درابكين.
- فقاعات هواء في الممصات.

معدات غير جيدة أو وسخة مثل.

- ممصات مكسورة.
- ممصات وسخة.
- كفيتات وسخة.
- مراشح وسخة.
- مقياس طيف ضوئي أو مقياس هيموغلوبين أو مقياس لوني غير جيد.

طريقة غير صحيحة

- استخدام عامل تخفيف مختلف عن الذي تمت به معايرة المقاييس السابقة.
- مزج غير صحيح للكاشف.
- وضع الكفيت في الحجيرة مواجهاً الضوء بطريقة غير صحيحة.
- فقاعات هواء في الكفيت .
- استعمال مرشح معياري للضبط من مقاييس أخرى.
- استخدام مرشح خاطئ للمقياس اللوني .

ملاحظة :

إذا تطلب مقياس طيف ضوئي أو مقياس هيموغلوبين أو المقياس اللوني إعادة معايرة متكررة (كل 2 - 3 أيام مثلاً) تغير البصلة ويعاد الإجراء لضبط الجودة الداخلي. إذا كانت المشكلة مستمرة ترسل الآلة إلى وكيل الخدمة.

4.9 تقدير الكسر الحجمي للكريات الحمر

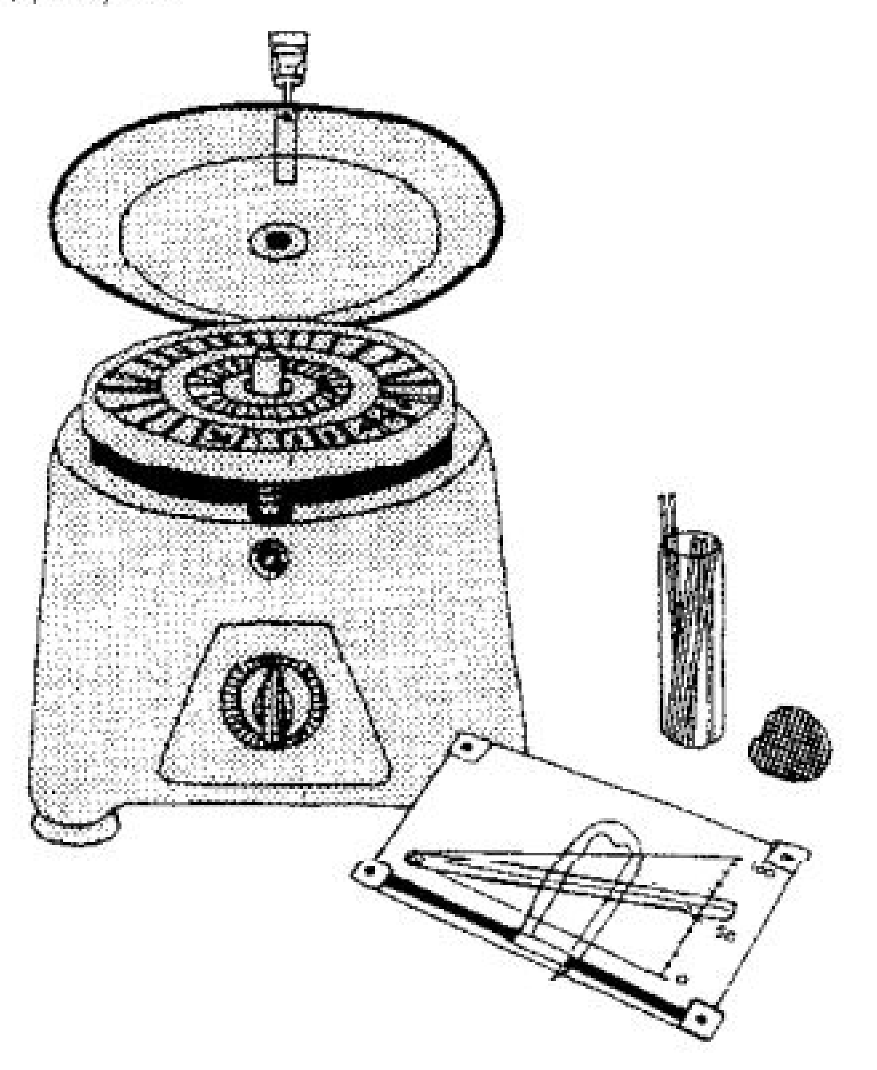
إن الحجم الكلي للكريات الحمر في حجم معين من الدم مقسوماً على حجم الدم كله يدعى الكسر الحجمي للكريات الحمر. مثلاً: إذا كان حجم الكريات الحمر في لتر واحد (1000 مل) من الدم هو 450 مل فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر هو 450 مل/1000 مل = 0.45 (لمّا كان الكسر هو ميليلترات مقسومة على ميليلترات فإن الوحدة ,,مل" تُحْذَف والنتيجة تكون كسراً عشرياً بسيطاً بلا وحدة). أما باقي الدم فإنه يتألف برُمَّتِهِ تقريباً من البلازما مع حجم ضئيل يُمَثِّل الكريات البيض، فإذا أُهْمِل هذا الحجم الأخير فإن الكسر الحجمي للبلازما في المثال الآنف الذكر هو 550 مل/1000مل = 0.55 (يلاحظ أن 0.45 + 0.55 = 1.0، أي الكسر الحجمي للكريات الحمر + الكسر الحجمي للبلازما = 1). وعلى هذا فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر هو قياس لنسبة الكريات الحمر إلى البلازما، ويُستعمل لتقدير تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي، وهو ذو قيمة تشخيصية لدى المريض الذي يعاني من التجفاف أو الصدمة أو الحروق.

قبل إدخال الوحدات السّيَويّة SI (وحدات النظام الدولي) كان الكسر الحجمي للكريات الحمر يدعى إما „الهيماتوكريت" أو „حجم الكريات المكدسة P C ڤولط" وكان يُسَجّل بالنسبة المئوية بدلاً من الكسر العشري، وفي النظام التقليدي يُعْطى „حجم الكريات المكدسة "في المثال الآنف الذكر على أنه 45%؛ ويُلاحَظ أنه باستعمال الوحدات السيوية SI لا تتبدل القيمة الرقمية ولكنها تصبح 0.45 بدلاً من 45%.

1.4.9 طريقة سُلَّم القياس الصِّغْري (المِكْرَوي)

المبدأ

يوضع الدم (الممزوج مع مضاد التخثر) في أنبوب شعري طويل، ويُنَبَّذ باستعمال وصلة „رأس المِكْداس الصغري microhaematocrit head"، ويُقْرَأ المستوى الذي يبلغه عمود الكريات الحمر على قارئ السُلَّم. وهذه الطريقة مُفَضَّلَة على طريقة السلم العياني أوالكِبْري لأنها أسرع ويمكن أن يُستعمل فيها الدم المأخوذ من الاصبع.



الشكل 27.9. المواد المستعملة لتقدير الكسر الحجمي للكريات الحمر باستعمال طريقة سلم القياس الصغري (المكروي).

المواد والكواشف (الشكل 27.9)

- مِنْبَذَة كهربائية للمكروهيماتوكريت.
- سلم مُصَمَّم خِصِّيصاً لقراءة النتائج (يُزَوَّد به عادةً مع المنبذة).
- أنابيب شعرية (بطول 75 مم وقطر 1.5 مم) تحتوي على الهيبارين المُجَفَّف (كمضاد تخثر).

إذا استُعمِل الدم الوريدي الممزوج مع محلول الملح التناني البوتاسيوم للإيديناتEDTA 10% (الكاشف رقم 22) فلا حاجة لأنْ تحتوي الأنابيب الشعرية على الهيبارين.

- مصات باستور طويلة ورفيعة (طول كاف ليصل إلى قعر الأنابيب) مع حلمة مطاطية.
- ورق ترشيح.
- شمع طري أو معجون البلاستيك المستعمل في لعب الأطفال (أو مِلْهَب بَنْزِن أو مصباح كحولي).
- واخزة معقمة لأخذ الدم الشعيري.
- إيثانول 70%.

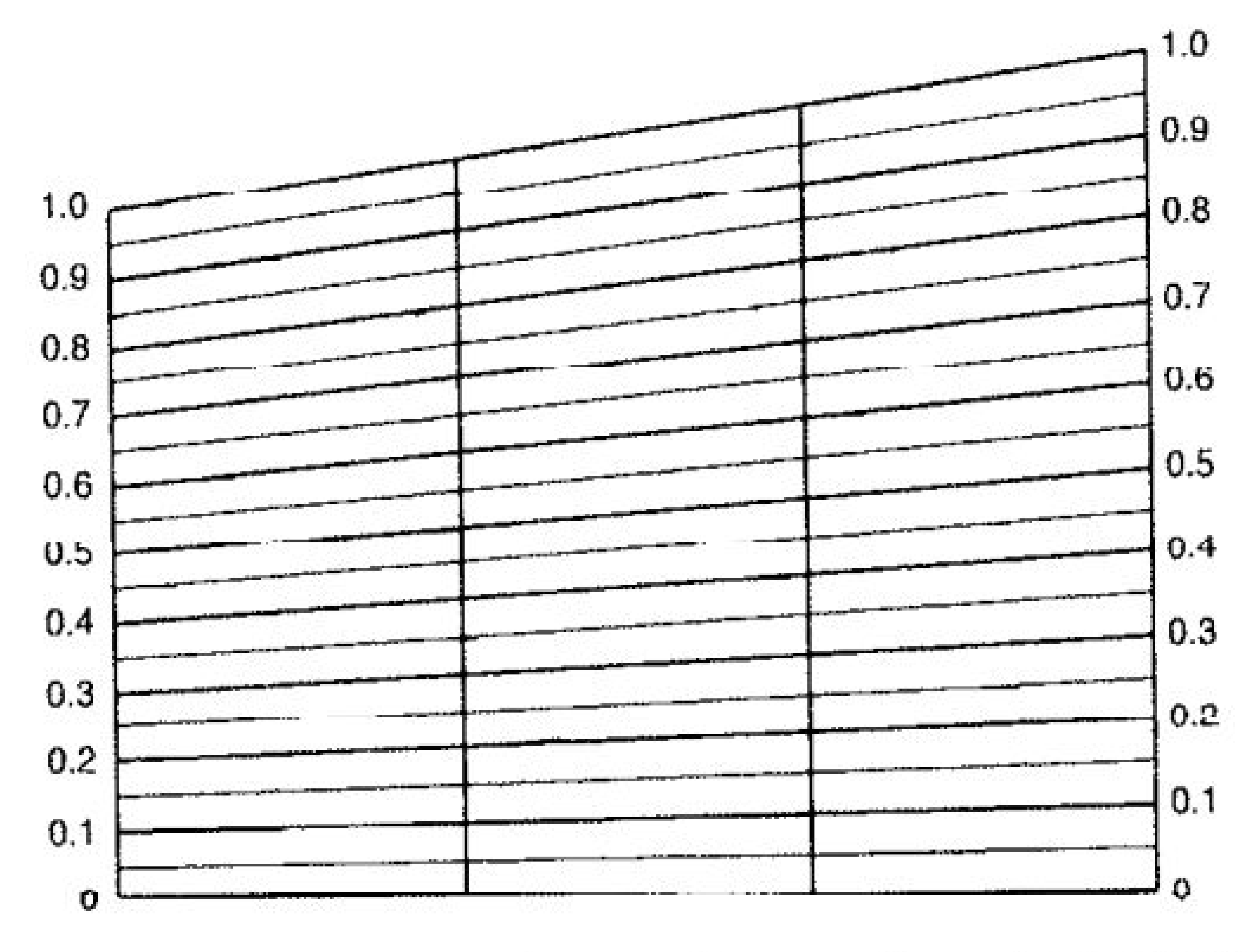
إذا لم تتوافر قارِئَة أو سُلَّم للقراءة فيمكن للفاحص أن يصنع قارئة بنفسه باستعمال ورق المخططات بعرض 15–20 سم والمُسَطَّر بالميليمترات. فعلى الجانب العمودي الأيسر وبدءاً من الأسفل تُعْمَل سلسلة من العلامات عددها 10 يفصل بين الواحدة والأخرى 4 مم، وعلى الجانب العمودي الأيمن تُعمل بنفس الطريقة 10 علامات يفصل بين الواحدة والأخرى 6 مم، وباستعمال المسطرة تُرْسَم عشرة خطوط مائلة تصل كل علامة على الهامش الأيسر بالعلامة المقابلة لها على الهامش الأيمن. ثم يُكتب على الهامش الأيسر بجانب خط القاعدة الأفقي من ورق المخططات الرقم „0"، ثم يُرَقَّم الهامش الأيسر من الأسفل إلى الأعلى بجانب الأسطر المائلة التي جرى رسمها كما يلي: 0.1، 0.2، 0.3، الخ... بحيث يُسَجَّل بجانب السطر المائل الأعلى الرقم 1.0، أما في الهامش الأيمن فتُكْتَب الأرقام نفسها مقابلةً للنهايات اليمنى للأسطر المائلة التي رسمت. ثم تُستعمل المسطرة من جديد لرسم سلسلة ثانية من الخطوط المائلة على أن تكون أخَفّ من مجموعة الخطوط الأولى وتَقْسِم المسافات التي حصلت بين كل خطين ثخينين في منتصفها بدقة. وأخيراً تُرْسَمُ (باتباع الخطوط المطبوعة لورق المخططات) سلسلةٌ من الخطوط القائمة الثخينة بفواصل حوالي 3 سم. وبذلك يبدو سلم القراءة هذا مشابهاً لذاك الظاهر في الشكل 28.9. وبدلاً من صنع سلم خاص يمكن استعمال سلم القراءة المطبوع هنا لقراءة الكسور الحجمية للكريات الحمر (يُغَطّى بصحيفة من البلاستيك).

الطريقة

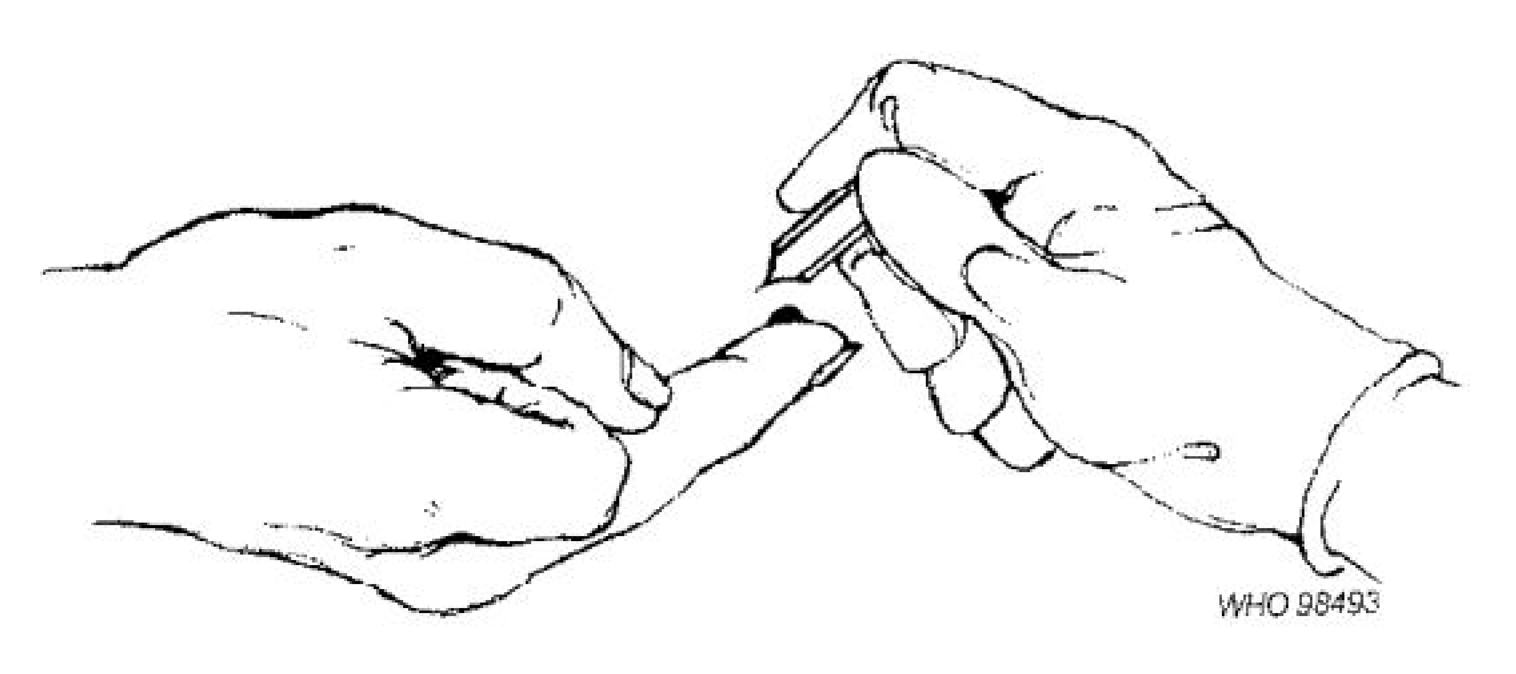
أخذ النموذج

نماذج الدم الشعيري

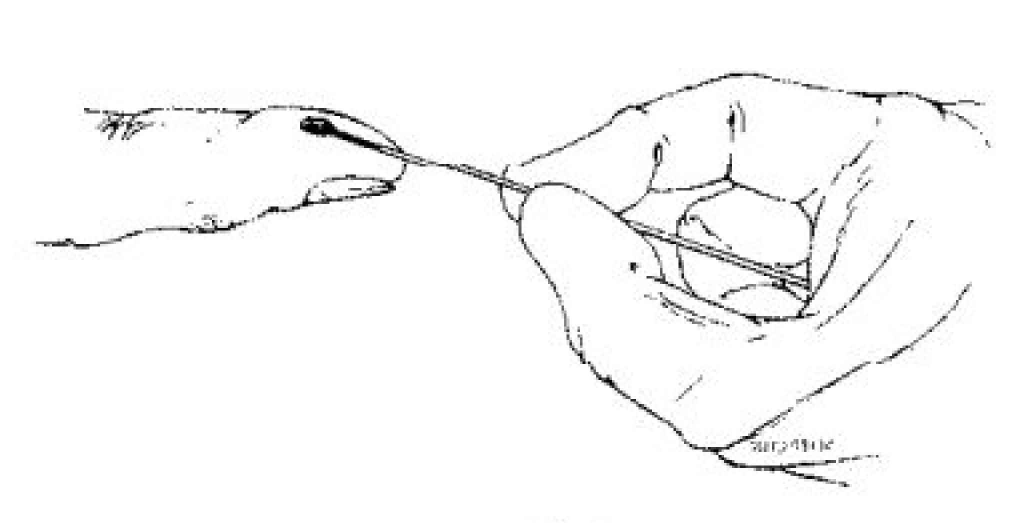
1. تستعمل واخزة لاستخراج الدم بوَخْز:
- الإصبع الوسطى أو البنصر (الشكل 29.9)، – أو شحمة الأذن، – أو العَقِب (في الرُّضَّع)، بعد تعقيم المنطقة المُخْتارَة بالكحول.



الشكل 28.9. السلم الصغري (المكروي) لقراءة الكسر الحجمي للكريات الحمر.



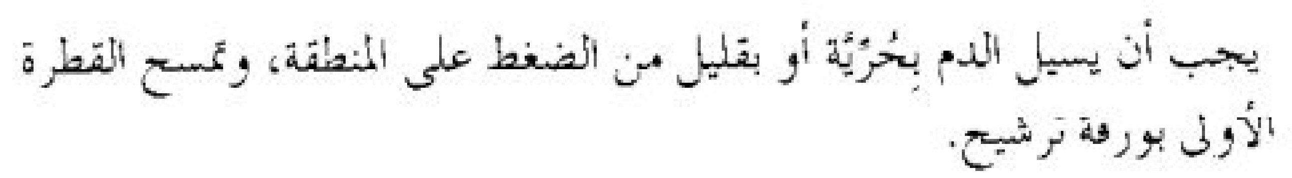
الشكل 29.9. أخذ عينة الدم الشعيري.



الشكل 30.9. طريقة سحب الدم إلى أنبوب شعري.

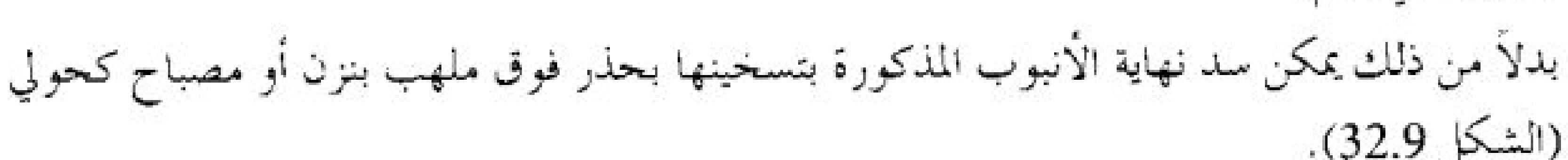
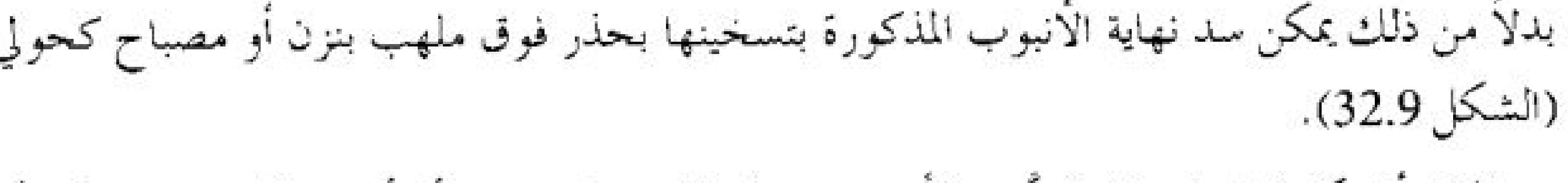
يجب أن يسيل الدم بحُرِّيَّة أو بقليل من الضغط على المنطقة، وتمسح القطرة الأولى بورقة ترشيح.

2. تُطَبَّق ذروة الأنبوب الشعري الهيباريني (المُعَلَّمة بدائرة حمراء) على قطرة الدم


(الشكل 30.9) فيسحاب الدم في الأنبوب بالخاصة الشعرية حيث يُملأ ثلاثة أرباع الأنبوب.

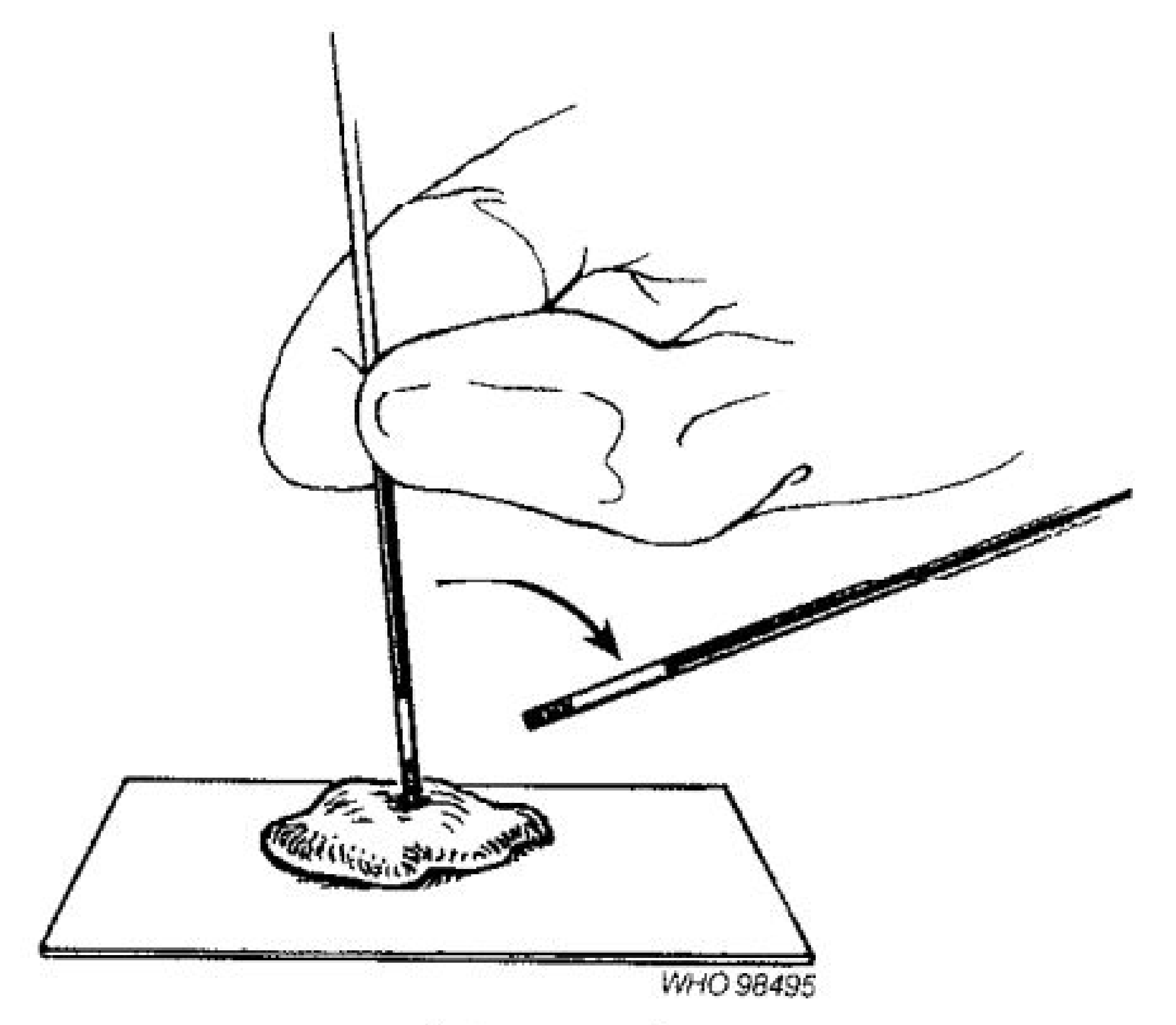
3. تُسَدُّ بالشمع اللين أو المعجون (الشكل 31.9) النهايةُ الثانية للأنبوب (أي، النهاية التي لم تكن في تماس مع الدم)، ويتم التحقق من انسدادها الكامل إلى عمق حوالي 2 مم.

بدلاً من ذلك يمكن سد نهاية الأنبوب المذكورة بتسخينها بحذر فوق ملهب بنزن أو مصباح كحولي (الشكل 32.9).

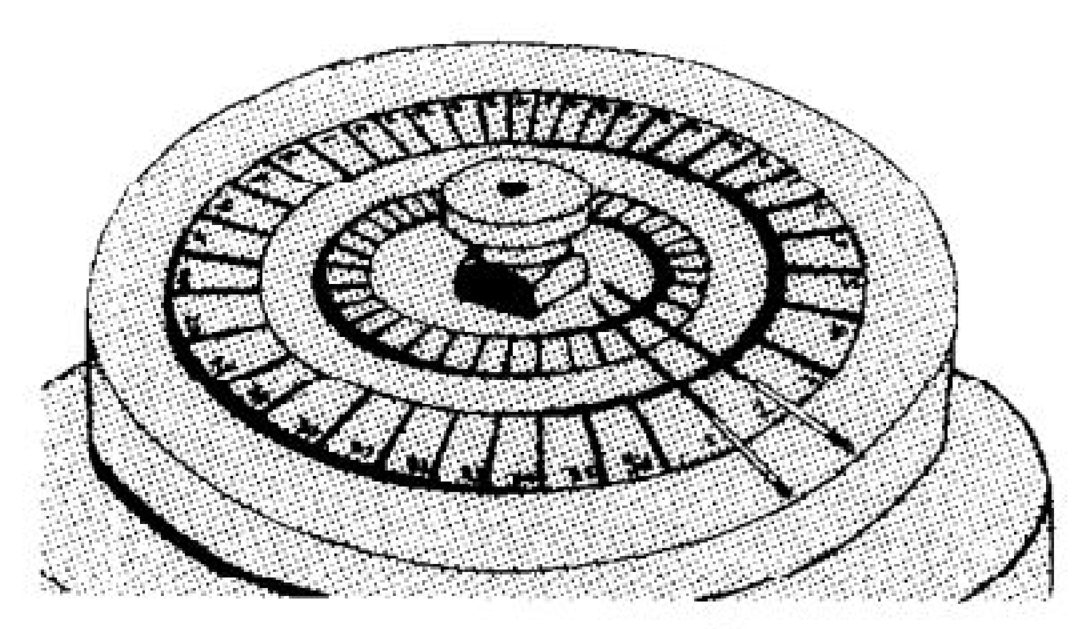


من المفيد أن يكون لدينا حامل مُرَقَّم سلفاً يحتوي على المعجون، بحيث أن أنبوب كل مريض يمكن أن يُغْرَز بصورة قائمة عند الرقم المطابق له.

نماذج الدم الوريدي

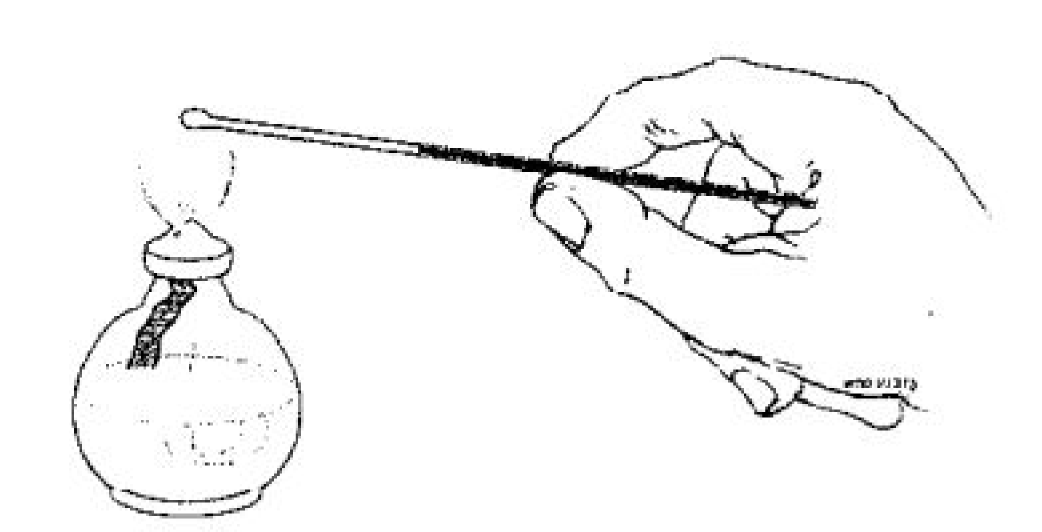
1. يؤخذ نموذج الدم الوريدي كما وصف في الفقرة 2.9 ويضاف إلى أنبوب اختبار يحوي محلول أملاح الأديتات ثنائي البوتاسيوم.



الشكل 31.9. سدّ الأنبوب الشعري بالشمع.



الشكل 33.9. وضع الأنابيب الشعرية في المنبذة.

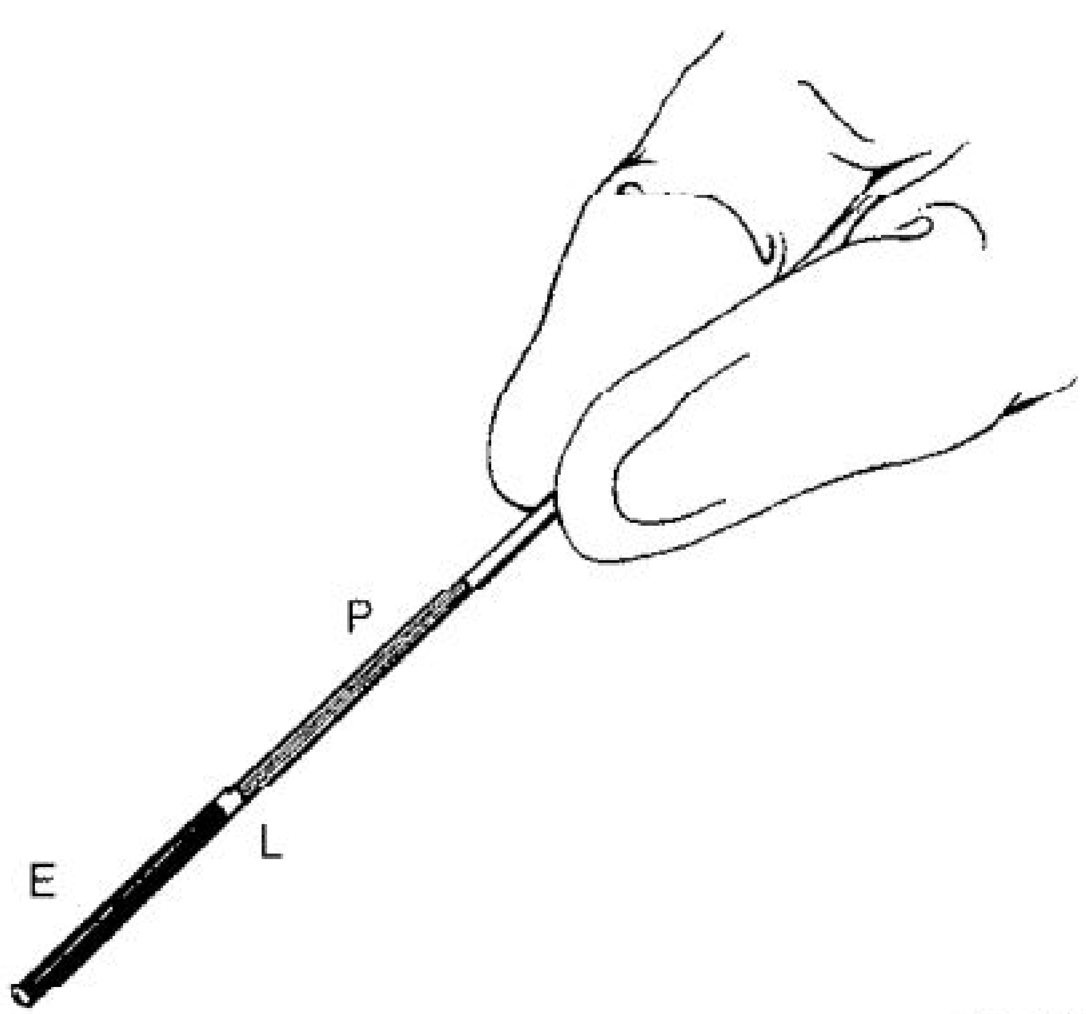


الشكل 32.9. سد نهاية الأنبوب الشعري بالتلهيب.

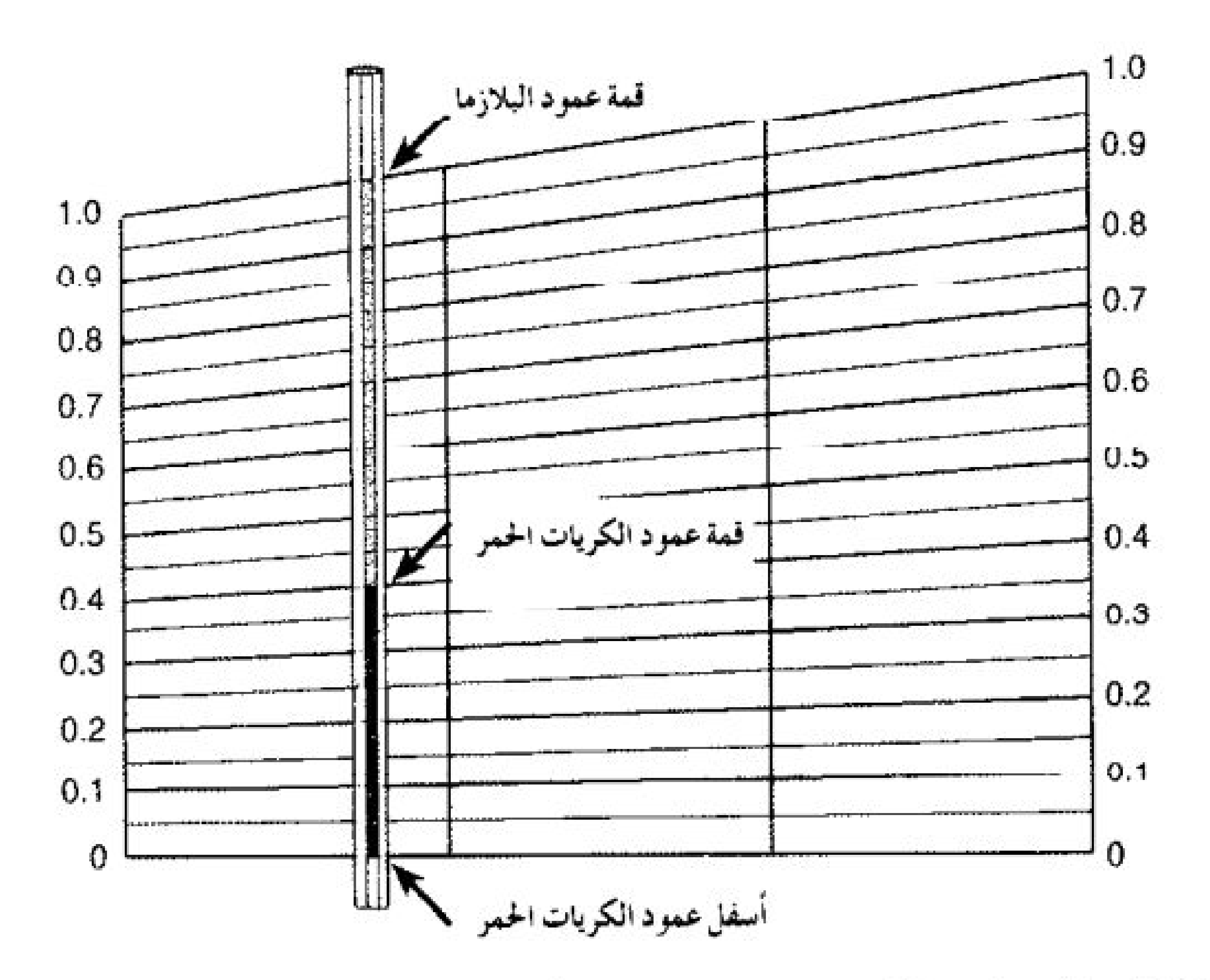
2. يستخدم ممص شعري لملء ثلاث أرباع الأنبوب الشعري بالدم.
3. يسد الأنبوب كما وصف في الخطوات الثلاث السابقة.

طريقة القياس

1. توضع الأنابيب الشعرية في شقوقها المرقمة في رأس المنبذة مع التأكد من أن رقم الشق يطابق رقم النموذج. وينبغي أن تكون نهاية الأنبوب المختومة موجهة نحو الخارج بعيداً عن المركز (الشكل 33.9).
2. يُنبّذ بسرعة عالية بقوة 3000 جاذبية (للمدة الزمنية الموصى بها من الشركة الصانعة للمنبذة: 10 دقائق عادةً)
   بعد التنبيذ تُرى في الأنابيب 3 طبقات (الشكل 34.9):
   – في القمة: عمود من البلازما؛
   – في الوسط: طبقة رقيقة جداً من الكريات البيض؛
   – في القاع: عمود من الكريات الحمر.
   ينبغي أن تتم قراءة الكسر الحجمي للكريات الحمر على قمة عمود الكريات الحمر بالضبط.
3. يُطبّق الأنبوب على سلم القراءة بحيث يكون قاع عمود الكريات الحمر (وليس قاع الأنبوب) واقعاً على خط الصفر الأفقي (الشكل 35.9).
4. يُحرّك الأنبوب فوق سلم القراءة إلى أن يتطابق خط الرقم 1.0 المائل مع قمة عمود البلازما؛ وينبغي التأكد من أن قاع عمود الكريات الحمر مازال على خط الصفر. كذلك ينبغي التأكد (بواسطة الخطوط العمودية الثخينة) من أن الأنبوب عمودي.



الشكل 34.9. عينة مُنبَذة من الدم الشعيري:
P: بلازما؛ L: الكريات البيض والصفيحات؛ E: الكريات الحمر.



الشكل 35.9. قياس الكسر الحجمي للكريات الحمر باستخدام السلم المكروي.

5. إن الخط الذي يمر من خلال قمة عمود الكريات الحمر يعطي الكسرَ الحجمي للكريات الحمر (0.4 في الشكل 35.9)، أما الخطوط الخفيفة المتوسطة بين الخطوط الثخينة فإنها تمثل فواصل مقدارها 0.05، فإذا لم تكن قمة عمود الكريات الحمر على خط بل كانت بين خط ثخين وآخر خفيف فيمكن تقديرها إلى أقرب رقم 0.01.

ملاحظة: إذا كان المختبر الذي تعمل فيه لم يستعمل الوحدات الإسوية SI (وحدات النظام الدولي) بَعْدُ ومازال يستعمل وحدات النظام التقليدي فيمكن استعمال نفس اللائحة على أن تُقْرَأ الأرقام على أنها نسب مئوية بدلاً من كسور، فمثلاً بدلاً من „الكسر الحجمي للكريات الحمر 0.4" نُسَجل النتيجة كما يلي: „حجم الكريات المعبأة أو الهيماتوكريت 40%".

الجدول 6.9. الكسور الحجمية السوية للكريات الحمر (وحجوم الكريات المكدسة) بحسب الفئة العمرية

الفئة العمرية	الكسر الحجمي للكريات الحمر	حجم الكريات المكدسة (%)
حديثو الولادة	0.58–0.50	58–50
الرضع (3 أشهر)	0.40–0.35	40–35
الأطفال (5 سنوات)	0.44–0.38	44–38
النساء	0.43–0.37	43 37
الرجال	0.50–0.40	50–40

النتائج

المجال المرجعي

يبدي الجدول 6.9 المجالات المرجعية للفئات العُمرية المختلفة.

القيم المنخفضة

توجد القيم المنخفضة في المرضى الذين يعانون من فقر الدم (أنيميا): حيث يكون الكسر الحجمي للكريات الحمر في الرجال أقل من 0.40 وفي النساء أقل من 0.37 (أي حجم الكريات المكدسة أو الهيماتوكريت أقل من 40% و37% على التوالي).

القيم العالية

توجد القيم العالية في حالات ضياع البلازما والحروق الشديدة والتجفاف (كما في أمراض الإسهال) وكذلك (ولكن بشكل نادر) في مرض كثرة الكريات الحمر polycythemia.

العلاقة بين التركيز العددي للكريات الحمر وبين الكسر الحجمي للكريات الحمر

العادة أن التركيز العددي للكريات الحمر (الكريات × 10^{12}/ل) ذو علاقة وثيقة بالكسر الحجمي للكريات الحمر، فإذا رمزنا للأول بالرمز ت فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر سوف يكون عادةً في المجال [(ت–0.2) ÷ 10] إلى [(ت–0.4) ÷ 10].

مثال:

إذا كان التركيز العددي للكريات الحمر 5× 10^{12}/ل فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر سيقع عادةً في المجال التالي [(5–0.2) ÷ 10] إلى [(5–0.4) ÷ 10] أي هو بين 0.48 و 0.46.

في الوحدات التقليدية تكون العلاقة مماثلة ولكن صيغة الحساب تختلف بعض الشيء: فإذا كانت ت تعداد الكريات الحمر فإن حجم الكريات المكدسة (الهيماتوكريت) معبراً عنه بالنسبة المئوية سيكون عادةً في المجال التالي: [(ت × 10) –2] إلى [(ت × 10) –4].

العلاقة بين الكسر الحجمي للكريات الحمر وبين تركيز الهيموغلوبين

إن الكسر الحجمي للكريات الحمر يعادل في العادة تركيز الهيموغلوبين (مقدراً بالغرام في اللتر) مضروباً بالرقم 0.003، أما إذا كان تركيز الهيموغلوبين مقدراً بالميلي مول من حديد الهيموغلوبين (Fe) باللتر فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر يساوي على التقريب هذا التركيز مضروباً بالرقم 0.05.

مثال:

في شخص يبلغ تركيز الهيموغلوبين لديه 130 غ/ل يكون الكسر الحجمي للكريات الحمر عادةً 130×0.003= 0.39، وإذا كان تركيز حديد الهيموغلوبين (Fe) يبلغ 8.0 ممول/ل فإن الكسر الحجمي للكريات الحمر يكون حوالي 8.0 × 0.05 = 0.4.

معلومات إضافية يزودنا بها تعيين الكسر الحجمي للكريات الحمر

تُفحص طبقة الكريات البيضاء التي تعلو عمود الكريات الحمر مباشرةً (وتدعى الغِلالَة الشهباء) (الشكل 34.9) فترى في العادة رقيقة جداً ، فإذا بدت ثخينة يُعَيَّن التركيز العددي للكريات البيض (الفقرة 6.9). وإنما تبدو هذه الطبقة ثخينةً بشكل شاذ إذا تجاوز التركيز العددي للكريات البيض 20×10^9/ل، وهذا التركيز العددي قد يبلغ في حالات ابيضاض الدم (لوكيميا) 100–200× 10^9/ل فتقيس طبقة الكريات البيض عدة ميليمترات.

تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي

تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي هو رقم يُمَثِّل المقدار الوسطي من حديد الهيموغلوبين الذي تحتويه الكريات الحمر، ويُعَبَّر عنه إما بغرامات الهيموغلوبين باللتر أو بالميليمولات من الهيموغلوبين (Fe) باللتر[1]، ويُحْسَب بتقسيم تركيز الهيموغلوبين في الدم على الكسر الحجمي للكريات الحمر.

مثال:

- إذا عبرنا عن تركيز الهيموغلوبين بالغرام باللتر:

تركيز الهيموغلوبين = 150 غ/ل

الكسر الحجمي للكريات الحمر = 0.43

تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي = 150 ÷ 0.43 = 349 غ/ل (أو 34.9%).

- إذا عبرنا عن تركيز الهيموغلوبين بالميلي مول من حديد الهيموغلوبين (Fe) باللتر:

حديد الهيموغلوبين = 9.3 ممول/ل

الكسر الحجمي للكريات الحمر = 0.43

تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي = 9.3 ÷ 0.43 = 21.6 ممول/ل.

ملاحظة: لتحويل القيم المُقَدَّرة بـ غ/ل إلى قيم مقدره بـ ممول/ل نضرب بـ 0.06206، ففي استعمال المثال السابق يكون 349 غ/ل × 0.06206 = 21.6 ممول/ل.

القيم المرجعية

وعادة ما يكون تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي يتراوح بين الحدين التاليين:

– الحد الأدنى: الهيموغلوبين 322 غ/ل أو حديد الهيموغلوبين 20 ممول/ل؛

– الحد الأعلى: الهيموغلوبين 371 غ/ل أو حديد الهيموغلوبين 23 ممول/ل.

فإذا كان التركيز يقع ضمن هذه الحدود يقال إن الكريات الحمر "سوية الصباغ" (أي ذات تلون طبيعي).

وإذا كان التركيز أقل من الحد الأدنى يقال إن الكريات "ناقصة الصباغ" (أي أقل تلوناً من الطبيعي)، ويصادف ذلك في حالات فقر الدم الناقص الصباغ.

أما إذا تجاوز التركيزُ الحدَّ الأعلى فينبغي قبل كل شيء أن نشك بوجود خطأ ونعيد تعيين تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي، والواقع أنه لا توجد حقاً كريات "مفرطة الصباغ" (أي أكثر تلوناً من الطبيعي)،إذ أنه يشكل 95٪ من كتلة الكريات الحمر. وفي مثل هذه الحالة قد يزداد حجم الكريات الحمر فتحتوي من ثَمَّ على كمية من الهيموغلوبين أكثر من الطبيعي ولكن تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي لا يمكن أن يتجاوز بأي حال من الأحوال 380 غ/ل (أو حديد الهيموغلوبين (23.6 (Fe) ممول/ل).

1. انظر الملاحظة حول تغيير تركيز الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي - الشوكي) (راجع الفقرة 4.3.8).

يمكن أن يُعَبَّر عن تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي MCHC بشكل نسبة مئوية (في النظام التقليدي)، ويُحسَب بأن يقسم تركيز الهيموغلوبين في الدم مقدراً بالغرام/100 مل على حجم الكريات المكدسة (الهيماتوكريت) معبراً عنه كنسبة مئوية ثم يُضرب الناتج بـ 100.

مثلاً:

تركيز الهيموغلوبين = 15.0 غ/100 مل

حجم الكريات المكدسة 43%

تركيز هيموغلوبين الكرية الوسطي = (15.0÷43)×100= 35%.

وفي هذا النظام (أي التقليدي) يكون المجال المرجعي 32–37% ولا يتجاوز 38% أبداً، فإذا تم الحصول على نتيجة كهذه يجب إعادة الاختبار.

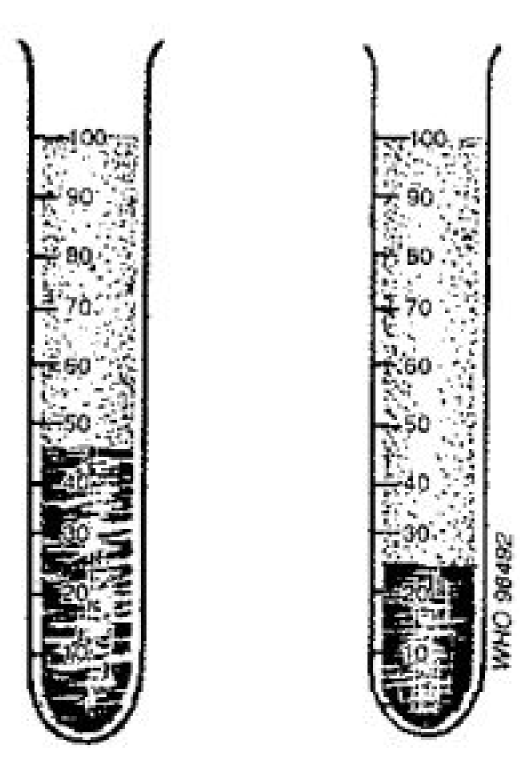
2.4.9 طريقة سُلَّم القياس العياني أو الكِبْري

المبدأ

يوضع الدم (الممزوج مع مضاد التخثر) في أنبوب مدرج، ويُنبَّذ لتكديس الكريات الحمر. يُقرَأ المستوى الذي يبلغه عمود الكريات الحمر من الأنبوب المدرج مباشرة.

المواد والكواشف (الشكل 37.9)

- منبذة.
- أنابيب مُدرَّجة خاصة (أنابيب وِنْتروبWintrobe)، بطول 9.5 سم وقطر داخلي 0.6 سم، ومدرجة من 0 إلى 100.
- مِمَصّ باستور شعري طويل نحيل (له من الطول ما يكفي للوصول إلى قاع أنبوب ونتروب) وله حَلَمَة من المطاط.
- مضاد للتخثر: محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات (10%) (الكاشف رقم 22) أو محلول ونتروب (الكاشف رقم 65).

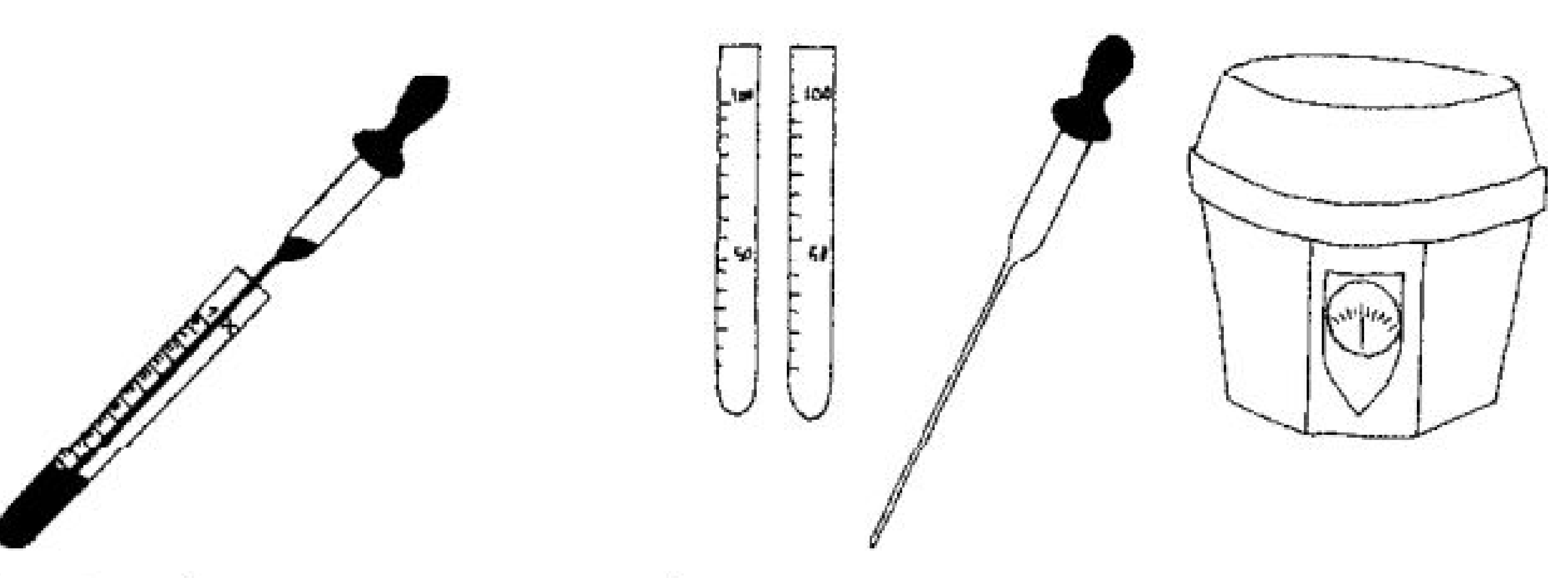


الشكل 36.9. مبدأ سلم القياس العياني أو الكبروي لتقدير الكسر الحجمي للكريات الحمر.

الطريقة

أخذ النموذج

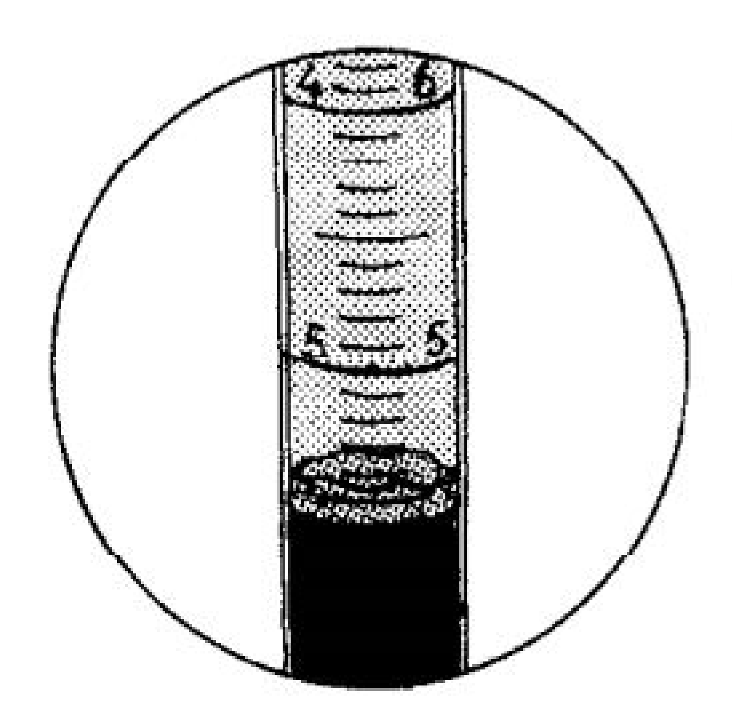
1. يؤخذ نموذج من الدم الوريدي كما وُصِف في الفقرة 9 .2 ويوضع في أنبوب مُدَرَّج يحتوي على مضاد تخثر (انظر أعلاه).
2. باستعمال الممص الشعري يُملأ الأنبوب المدرج بالدم حتى العلامة 100، مع التأكد من عدم تشكل فقاقيع هوائية (الشكل 38.9).



الشكل 37.9. المواد المستعملة لتقدير الكسر الحجمي للكريات الحمر باستعمال سلم القياس العياني أو الكبري.

الشكل 38.9. استخدام ممص شعري لملء الأنبوب المدرج بالدم.

طريقة القياس



الشكل 39.9. قياس المقدار الحجمي للكريات الحمر.

1. توضع الأنابيب المدرجة في المنبذة وتُنبَذ ثلاثين دقيقة بقوة نابذة مقدارها 2300 جاذبية، وإذا كانت الذراع الدوَّارَة في المِنْبَذَة (مقيسة من محور الدوران إلى قاعدة الدلو المحتوي على الأنبوب) بطول 15 سم فإننا نحتاج إلى 3600 دورة بالدقيقة من أجل الوصول إلى هذه القوة النابذة، أما إذا كان طول الذراع 20 سم فنحتاج إلى 3100 دورة بالدقيقة.

ملاحظة هامة: إن قوة نابذة أقل من 2300 جاذبية سوف تعطي نتائج كاذبة.

2. يُقرأ المستوى الذي يفصل بين طبقة الكريات الحمر وبين طبقة الكريات البيضاء (الشكل 39.9) مع التأكد من استعمال مجموعة التدريجات الصحيحة أي الصاعدة نحو الأعلى باتجاه العلامة 100، والرقم الذي يُحصَل عليه هو نسبة مئوية (حجم الكريات المكدسة؛) ويقسم هذا الرقم على 100 للحصول على الكسر الحجمي للكريات الحمر.

النتائج

انظر ص 282.

5.9 تقدير التركيز العددي للكريات الحمر

إن عدد الكريات الحمر الذي يوجد في لتر واحد من الدم يدعى التركيز العددي للكريات الحمر (وبالوحدات التقليدية يُعبَّر عنه بعدد الكريات بالميليمتر المكعب ويدعى „تعداد" الكريات الحمر). وتتطلب الطرقُ المضبوطة لعد الكريات الحمر جملةَ عَدَّاد إلكتروني، وللأسف فإن مثل هذه الأدوات لا تكون متوافرة غالباً في المختبرات المحيطية. وهناك طريقة بسيطة ولكنها ذات مَضْبوطِيَّة أقل كثيراً، فهي تَسْتَعْمِل حُجَيْرَة للعد تُعَدُّ فيها الكريات الحمر تحت المجهر، ويوصى بدلاً من ذلك بتعيين الكسر الحجمي للكريات الحمر (الفقرة 4.9) أو تركيز الهيموغلوبين (الفقرة 3.9) ثم يُحسب التركيز العددي للكريات الحمر. يجب أن تُعَدَّ الكريات الحمر باستعمال حجيرة للعد فقط عندما لا تكون الطرائق الموصى بها متوافرةً.

المجال المرجعي

يبدي الجدول 7.9 المجالات المرجعية للفئات العمرية المختلفة.

القيم المرتفعة

إن المرضى المصابين بالتجفاف أو المصابين بكثرة الكريات الحمر يكون لديهم ارتفاع في التراكيز العددية للكريات الحمر.

القيم المنخفضة

إن المرضى المصابين بفقر الدم الناجم عن فِقْدان أو انحلال الكريات الحمر يكون لديهم انخفاض في التراكيز العددية للكريات الحمر.

ملاحظة: فقر الدم هو متلازمة سريرية ذات أسباب دَفينَة عديدة مختلفة، وتتحدد الصورة السريرية بشدة فقر الدم ومدة بقائه.

الجدول 7.9. التراكيز العددية السوية للكريات الحمر بحسب الفئة العمرية.

الفئة العمرية	التركيز العددي للكريات الحمر	
	وحدات النظام الدولي (باللتر)	الوحدات التقليدية (بالـ م^3)
الولدان	^{12}10 × 7.0–5.0	^{6}10 × 7.0–5.0
الرضع (1–6 أشهر)	^{12}10 × 5.9–3.8	^{6}10 × 5.9–3.8
الأطفال (4 سنوات)	^{12}10 × 5.4–3.8	^{6}10 × 5.4–3.8
النساء	^{12}10 × 5.4–4.0	^{6}10 × 5.4–4.0
الرجال	^{12}10 × 6.2–4.5	^{6}10 × 6.2–4.5

وتتراوح الأعراض من الشحوب والتعب الخفيف إلى الصداع والدَّوْخة والتَّهَيُّجيَّة إلى السلوك غير المُضَبَّط وحتى الصدمة وقصور القلب.

يمكن أن ينتج فقر الدم من:

- فقد الدم،
- نقص إنتاج الكريات الحمر،
- زيادة تخرب الكريات الحمر.

إن السبب الأكثر شيوعاً لفقر الدم في كافة أنحاء العالم هو عوز الحديد، ويمكن لأسباب شائعة أخرى كالعدوى والملاريا وسوء التغذية وأعواز الفيتامينات أن تساهم عادةً في فقر الدم بالمشاركة مع عوز الحديد.

من الأسباب الأخرى لفقر الدم:

- الرَّضَح
- عداوى الطفيليات
- أمراض الجهاز الصماوي
- الأمراض المزمنة
- أخطاء استقلابية خِلْقيَّة
- التسمم.

6.9 تعيين التركيز العددي للكريات البيض

إن عدد الكريات البيض في 1 لتر من الدم يدعى التركيز العددي للكريات البيض أو تعداد الكريات البيض.

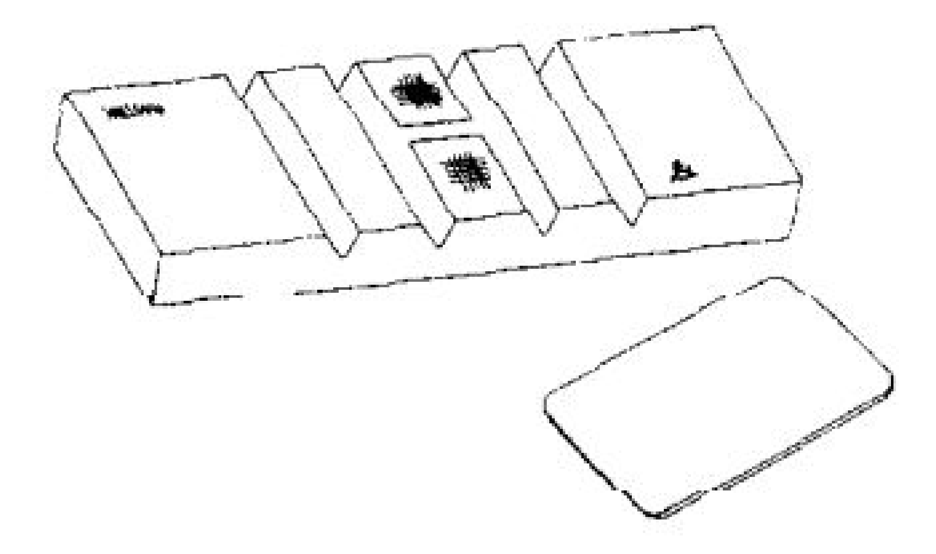
في بعض الأمراض يتغير عدد الكريات البيض في الدم، فهي مثلاً تزداد زيادة بالغة في بعض العداوى مثل كثرة الوحيدات العدوائية أو الانتانات الجرثومية، بينما ينخفض العدد بشكل ملحوظ في الحمى التيفية (التيفوئيد).

1.6.9 المبدأ

يُخَفَّف الدم بسائل تخفيف الكريات البيض الذي يَحَلّ الكريات الحمر ولكنه يترك الكريات البيض سالمةً. ثم تُعَدُّ الكريات البيض في حُجَيْرَة للعَدّ تحت المجهر، ويُحسب عدد الكريات في كل لتر من الدم.

2.6.9 المواد والكواشف

- مجهر
- حجيرة عد مسطَّرة، وتفضل حجيرة نوباور المحسَّنة المسطرة (الشكل 40.9؛ ونادرا ماتستخدم حجيرة بوركر)
- ممص ساهلي للدم، مدرج إلى 50 مكل (0.05 مل)
- ممص مدرج سعة 1 مل



الشكل 40.9. حجيرة نوباور.

- ممص باستور أو أنبوب شعري
- سائل التخفيف، ويُحَضَّر بإضافة 2 مل من حمض الأسيتيك الثلجي إلى 1 مل من المحلول المائي لبَنَفْسَجِيَّة الجِنطِيان 1%، ثم يُتَمَّم الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

إن أبعاد حجيرة نوباور هي كما يلي:

– المساحة = 9 مم2

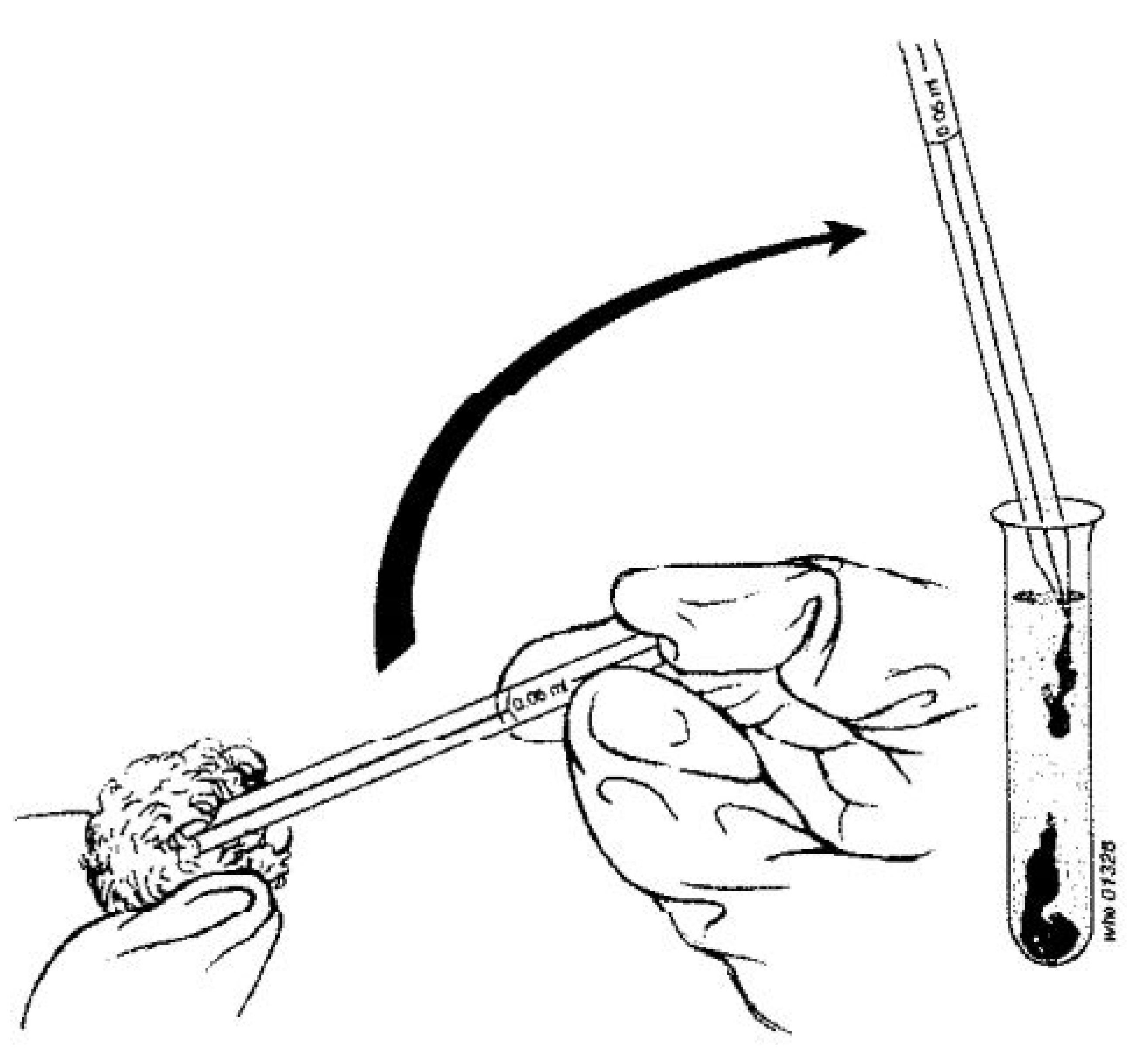
– العمق = 0.1 مم.

3.6.9 الطريقة

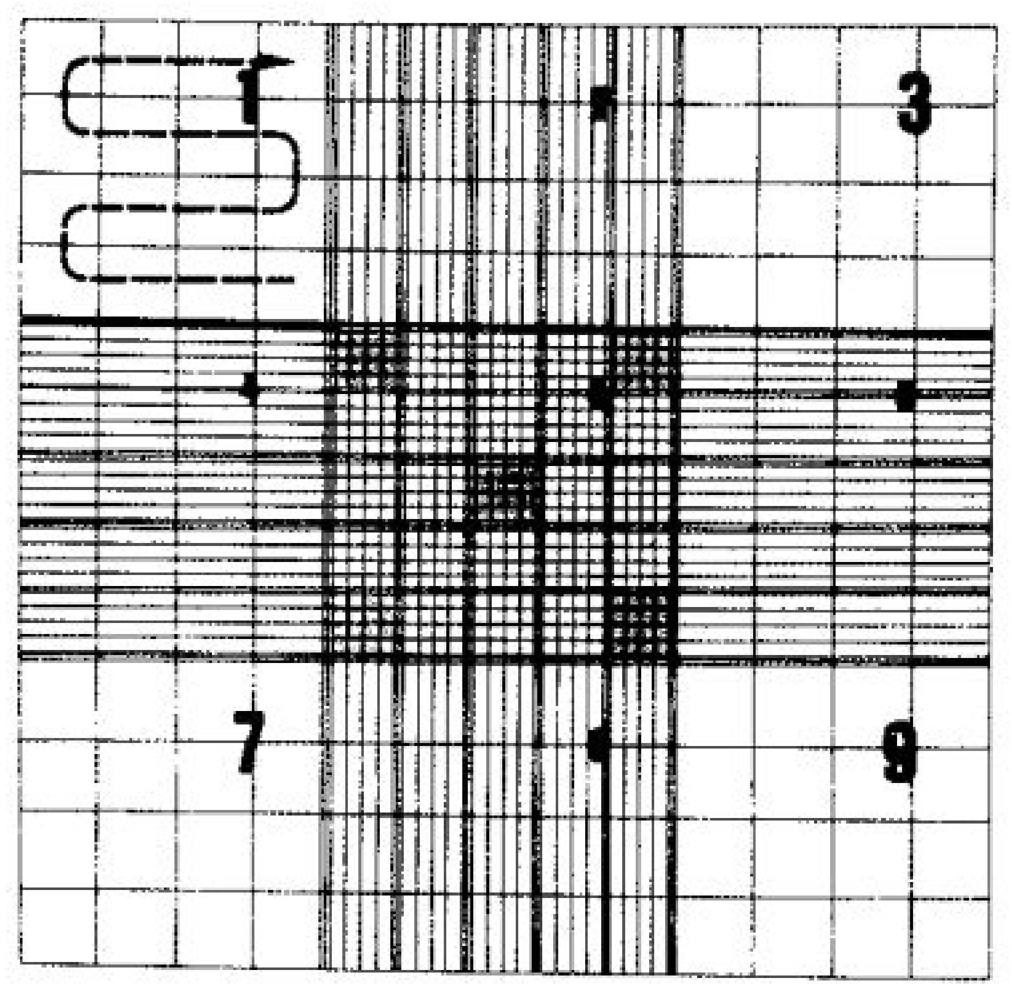
1. يُمَصّ 0.95 مل من سائل التخفيف ويوضع في قارورة صغيرة باستعمال المِمَصّ المدرج سعة 1 مل.
2. يُسْحَب الدم الوريدي أو الشُّعَيْرِي إلى العلامة 0.05 مل في مِمَصّ الدم باستعمال حَلَمَة مطاطية، ولا يُسْمَح لفقاقيع الهواء بأن تدخل. وفي الدم الوريدي ينبغي التأكد من أنه قد مُزِجَ جيداً بتقليب القارورة المحتوية عليه مع مضاد التخثر بشكل متكرر لمدة دقيقة واحدة تقريباً قبل المص منه مباشرةً.
3. يُمْسَح ظاهر الممص بورق ماص، ويتم التحقق من أن مستوى الدم لا يزال عند العلامة 0.05 مل (الشكل 41.9). ويُفْرَغ الدم في القارورة المحتوية على سائل التخفيف بعَصْر الحَلَمَة المطاطية، ثم يُشْطَف المِمَصّ بسَحْبِ السائل من القارورة إليه ونَفْخِه منه خارجاً ثلاث مرات باستعمال الحلمة؛ ويكون تخفيف الدم هنا بنسبة 1:20. تُعَنْوَن القارورة باسم المريض و/أو رقمه.
4. توضع الساترة على حجيرة العد مع ضغطها في مكانها بلطف (الشكل 40.9).

عندما تلصق الساترة بشكل ملائم تظهر عَصَائِب (أشرطة) مُلَوَّنَة تدعى حلقات نيوتُن بين السطحين الزجاجيين للساترة والحجيرة.

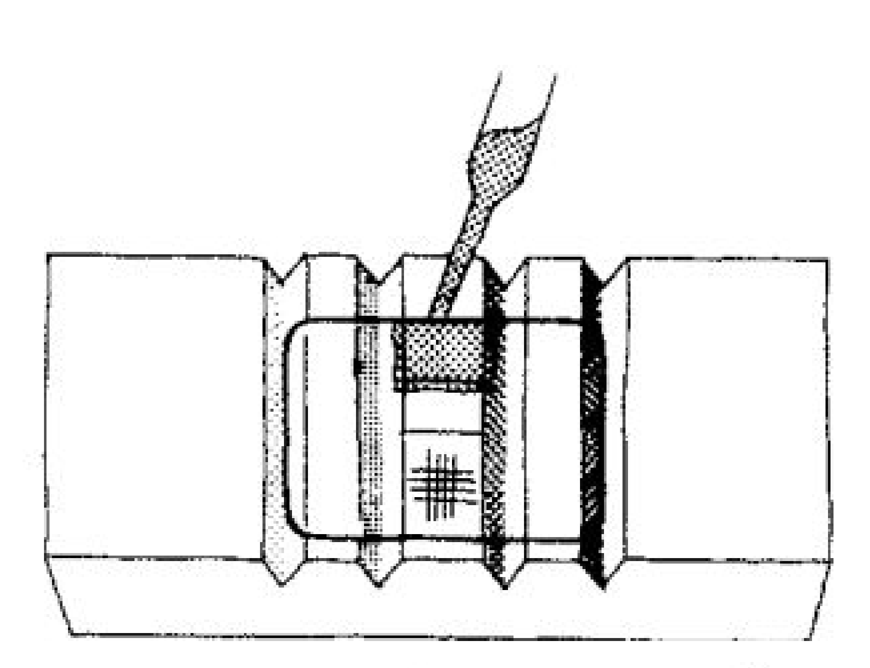
5. يُمْزَج الدم المُخَفَّف جيداً؛ ثم يُستعمل ممص باستور أو أنبوب شعري لملء حجيرة العد (الشكل 42.9)، مع العناية بعدم تَطْفِيْح الحجيرة أكثر من المساحة المُسَطَّرَة.



الشكل 41.9. التأكد من أن الدم ما زال عند العلامة.




الشكل 43.9. استخدام حجيرة نوباور المحسنة المسطرة.


الشكل 42.9. ملء حجيرة العد.

الشكل 44.9. عد الكريات البيض باستخدام حجيرة نوباور المحسنة المسطرة.

ملاحظة هامة: إذا فاض السائل إلى القناة الموجودة بين الحجيرتين، يجب البدء ثانية: فتُرْفع الساترة وتُنظَّف كما تنظف حجيرة العد ثم يُعاد ملؤها بقطرة جديدة.

6. تُترك حجيرة العد على المنضدة مدة ثلاث دقائق لتَرْقُد الكريات.
7. توضع حجيرة العد على رف المجهر، وتُستعمل الشيئية 10× والعينية 10×، وتُنْقَص كمية الضياء التي تدخل المكثفة بإحكام حجاب المكثفة ثم تُجْرى مُبْأرَة سطور الحجيرة والكريات البيض. ولا يجوز الخَلْط بين حَبَّات الغُبار وبين الكريات البيض.
8. تعد الكريات البيض في مساحة 4 مم^2 باستعمال مربعات الزوايا ذوات الأرقام 1 و 3 و 7 و 9 كما هو مبين في الشكل 43.9. يدخل ضمن الكريات البيض المعدودة تلك التي تكون على السطور في جانبين اثنين (الأيمن والأعلى مثلاً) من كل مربع معدود كما هو مبين في الشكل 44.9 حيث يبدو أحد المربعات الأربعة المعدودة أي 1 و 3 و 7 و 9.
9. يحسب عدد الكريات البيض في لِتْر واحد من الدم بُضْرَب عدد الكريات البيض المعدودة في المربعات الأربعة معاً بـ0.05. تُسجل النتيجة كما يلي: "العدد ×10^9 /ل".

مثال:

عدد الكريات البيض المعدودة = 188.

عدد الكريات البيض في 1 لتر = $(188\times0.05)\times10^9$

النتيجة المُسَجَّلة: 9.4×10^9 /ل.

إيضاح الحساب

إن كلاً من المربعات الأربعة التي عددنا فيها الكريات البيض مساحته 1 مم^2 فالمساحة الإجمالية هي 4 مم^2، ولما كان عمق الحجيرة هو 0.1 مم فإن الحجم الذي عددنا فيه الكريات البيض = $4\times0.1 = 0.4$ مم^3، ولذلك فإن تقسيم العدد على 4 ثم ضربه بـ10 سوف يعطي العدد الكلي للكريات البيض في 1 مم3 من الدم المُخَفَّف. ولما كان التخفيف هو 1 إلى 20 فإن الضرب بالرقم 20 يعطي عدد الكريات البيض في 1 مم^3 من الدم غير المخفف. وأخيراً فلما كان يوجد 1 مليون (10^6) ميليمتراً مكعباً في 1 لتر فإن الضرب بـ10^6 سوف يعطي عدد الكريات البيض في اللتر من الدم غير المخفف.

ويمكن تلخيص ما تقدم على الوجه التالي:

$$\text{عدد الكريات البيض باللتر} = \frac{\text{الكريات البيض المعدودة} \times 10 \times 20}{4} \times 10^{6}$$

= الكريات البيض المعدودة × 50 × 10^{6}

= الكريات البيض المعدودة × 0.05 × 10^{9}

مثال:

إذا كانت الكريات البيض المعدودة في المربعات الأربعة هي 188 كرية فإن العدد الكلي للكريات البيض في الميليمتر المكعب من الدم غير المخفف يكون:

$$\frac{20 \times 10 \times 188}{4} = 50 \times 188 = 9400$$

والعدد باللتر هو:

$$9400 \times 10^{6} = 9.4 \times 10^{9}$$

4.6.9 النتائج

المجال المرجعي

ذُكِرَت المجالات المرجعية للفئات العُمْرِيَّة المختلفة في الجدول 8.9.

القيم المرتفعة

يطلق على ازدياد العدد الكلي للكريات البيضاء الجائلة في الدوران اسم كَثْرَة الكريات البيض، ويمكن أن يحدث ذلك في بعض العداوى الجرثومية، ويمكن في ابيضاض الدم (لوكيميا) أن تُشاهَد تراكيز عددية للكريات البيض تتراوح ما بين 50 × 10^{9} /ل وبين 400 × 10^{9} /ل بل أعلى من ذلك، ويكون من الضروري عند ذلك من أجل تعيين التركيز العددي القيام بتخفيف أكبر للدم: مثلاً 0.05 مل من الدم و1.95 مل من سائل التخفيف مما يعطي تخفيفاً بنسبة 1 إلى 40، فإذا استُعمل هذا التخفيف فإن عدد الكريات المعدودة يُضْرَب بـ0.1 بدلاً من 0.05 للحصول على العدد ×10^{9} باللتر (وإذا استعملت الوحدات التقليدية يُضْرَب بـ100 بدلاً من 50 لإعطاء العدد بالميليمتر المكعب).

القيم المنخفضة

يدعى نقص العدد الكلي للكريات البيض الجائلة في الدوران قِلَّة الكريات البيض، ويمكن أن يحدث ذلك في بعض العداوى بما فيها الحمى التيفية والملاريا (البرداء)، وتحدث قلة الكريات البيض كذلك بعد المعالجة ببعض الأدوية. عندما يكون التركيز العددي للكريات البيض منخفضاً جداً فمن الضروري تخفيف الدم تخفيفاً أقل: مثلاً 0.05 مل من الدم و0.45 مل من سائل التخفيف مما يعطي تخفيفاً قدره 1 إلى 10 فإذا استُعمل هذا التخفيف فإن عدد الكريات المعدودة يُضْرَب بـ 0.025 بدلاً من 0.05 لإعطاء العدد ×10^{9} باللتر.

الجدول 8.9. التراكيز العددية السوية للكريات البيض بحسب الفئة العمرية

الفئة العمرية	التركيز العددي للكريات البيض (باللتر)[×]
حديثو الولادة	10–20 × 10^{9}
الرضع (3–9 أشهر)	4–15 × 10^{9}
الأطفال (3 سنوات)	4–11 × 10^{9}
الأطفال (10 سنوات)	4–10 × 10^{9}
البالغون	4–10 × 10^{9}

[×] قد يختلف المجال المرجعي لدى البعض.

التصحيح من أجل الكريات الحمر المُنَوَّاة

الكريات الحمر المنواة أو الأرومات السويةnormoblasts (الشكل 90.9) هي أدوار مبكرة للكريات الحمر، ولا توجد في الدم في الحالة السوية ولكنها قد تكون موجودة في الدم في بعض الأمراض كفقر الدم المنجلي وغيره من أنواع فقر الدم الانحلالي. والأرومات السوية لا تَنْحَلُّ بسائل التخفيف ولذلك فإنها تُعَدّ مع الكريات البيض، وعندما تكون هذه الأرومات السوية موجودة بأعداد كبيرة فإن التركيز العددي للكريات البيض يجب أن يُصَحَّح كما يلي: يُفحص فِلْم دموي رقيق مُلَوَّن بملون رومانوفسكي (الفقرة 10.9) ويُعَدّ عدد الأرومات السوية التي ترى في مقابل كل 100 كرية بيضاء.

الحساب:

التركيز العددي للأرومات السوية (باللتر) هو:

$$\frac{\text{عدد الأرومات السوية المعدودة}}{100 + \text{عدد الأرومات السوية المعدودة}} \times \text{التركيز العددي للكريات البيض}$$

مثال:

إذا عُدَّت 50 أرومة سوية وكان التركيز العددي للكريات البيض هو 16×10^9/ل فإن التركيز العددي للأرومات السوية هو:

$$16 \times \frac{50}{100 + 50} = 5.3 \times 10^9/\text{ل}$$

وبذلك يكون التركيز العددي المُصَحَّح للكريات البيض هو
$(16 - 5.3) \times 10^9/\text{ل} = 10.7 \times 10^9/\text{ل}$.

7.9 قياس سرعة تثفل الكريات الحمر

1.7.9 المبدأ

يوضع الدم المأخوذ على مضاد تخثر في أنبوب مدرج طويل مستقر في وضع عمودي، فتنزل الكريات الحمر وتَثْفَل إلى أسفل الأنبوب تاركةً فوقها طبقة من البلازما.

يدل ارتفاع عمود البلازما بعد ساعة واحدة على سرعة تثفل الكريات الحمر ESR.

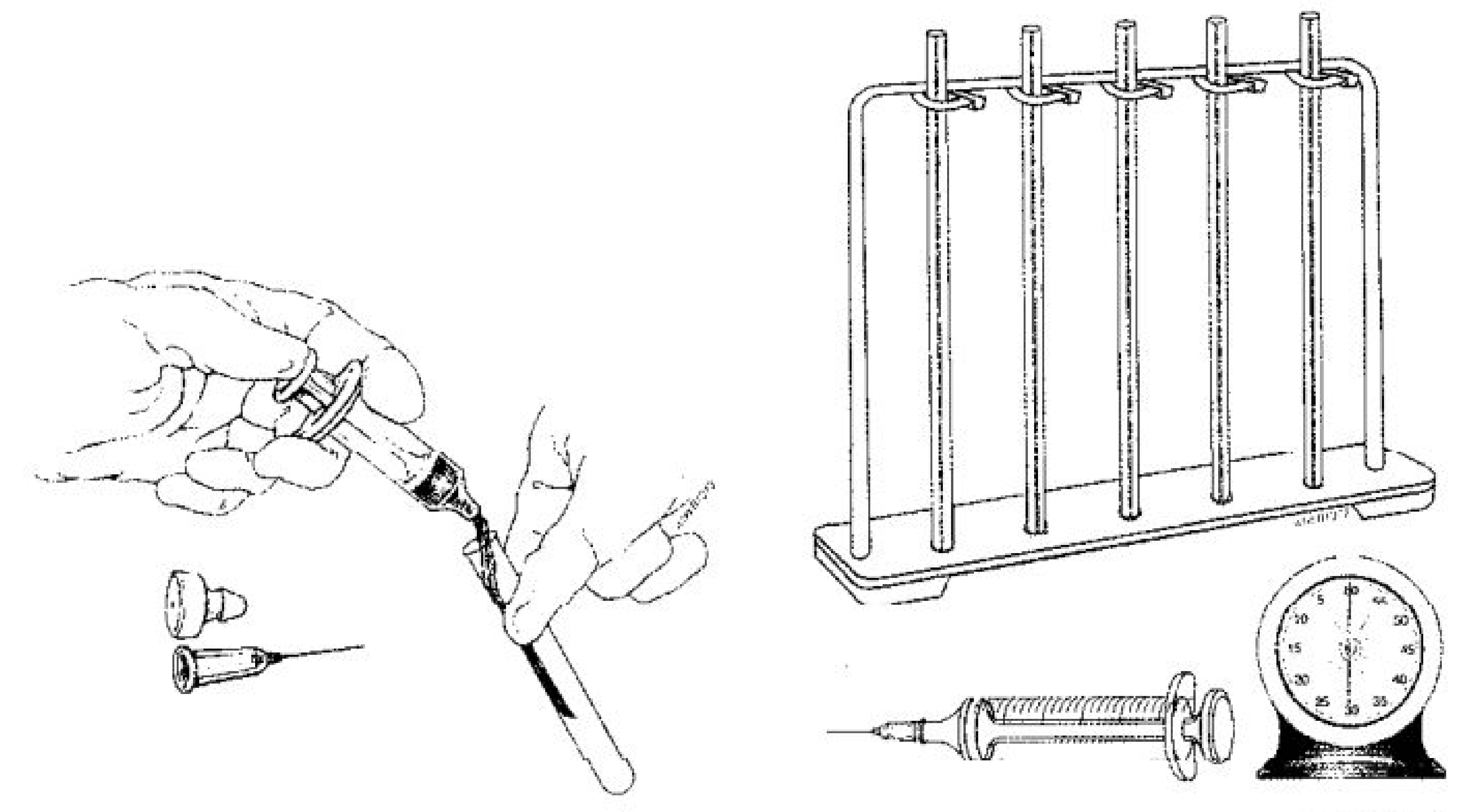
2.7.9 المواد والكواشف (الشكل 45.9)

- أنبوب تثفل وِسْترغرين: قطره الداخلي 2.5 مم، مُدَرَّج من 0 إلى 200 مم (مُعَلَّم غالباً من 1 إلى 20 حيث يدل 1 على 10 مم، و2 على 20 مم، ...الخ).
- حامل أنابيب وِسْترغرين.
- أنابيب اختبار
- مُحْقَنَة مُدَرَّجَة سعة 5 مل.
- مِمص مدرج سعة 5 مل.
- مُؤَقِّت.
- مضاد التخثر: محلول السيترات الثلاثية الصوديوم 3.2% (الكاشف رقم 60) (يُحْفَظ في الثلاجة) أو محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات 10% (الكاشف رقم 22).

3.7.9 الطريقة

1. يُمص 0.4 مل من محلول السيترات الثلاثية الصوديوم ويوضع في أنبوب أو قارورة.
2. يؤخذ نموذج من الدم الوريدي (الفقرة 2.9)، وذلك بأن تُرْبَط العاصبة بأقل ما يمكن من الشدّ، ثم يوخز الوريد بنَهْزَة واحدة خاطفة وتُفَكّ العاصبة.

يؤخذ 2 مل من الدم في المحقنة.



الشكل 45.9. المواد المستعملة لقياس سرعة تثفل الكريات الحمر.

الشكل 46.9. إضافة عينة الدم إلى محلول السيترات الثلاثية الصوديوم

3. تُنزع الإبرة من المحقنة ويُسكب 1.6 من الدم في القارورة المحتوية على مضاد التخثر (والمُعلّمة لتحتوي على ما مُجْمَلُه 2.0 مل) (الشكل 46.9)، وتُخَضْخَض القارورة بلطف. ينبغي أن يبدأ قياس سرعة التثفل في غضون ساعتين من أخذ الدم.

4. يُسحب الدم السيتراتي في أنبوب وسترغرين (باستعمال كمثرة مطاطية إن أمكن) حتى العلامة 0 مم (الشكل 47.9).

5. يوضع الأنبوب على حامل أنابيب وسترغرين مع التأكد من كون الأنبوب في وضع قائم تماماً (الشكل 48.9).

يجب التحقق من عدم وجود فقاقيع هوائية في الأنبوب.

كما يجب التحقق من كون مستوى الحامل أفقياً تماماً.

6. يُترك على منضدة بعيدة عن الاهتزاز (مثلاً: لا يوضع على المنضدة ذاتها التي توجد عليها منبذة) وعن التيارات الهوائية، وغير قريب من مِشْعاع radiator للتسخين المركزي، وغير واقع في ضوء الشمس المباشر.

7. يُنْتَظَر ساعة واحدة (يُربط المُؤَقِّت ليَرِنَّ)، ثم يُعَدّ ارتفاع عمود البلازما بالتدريجات المليمترية بدءاً من علامة 0 مم في أعلى الأنبوب (الشكل 49.9).

4.7.9 النتائج

يُعَبَّر عن النتيجة مقدرةً بالـ مم/ساعة.

المجال المرجعي

يبدي الجدول 9.9 المجالات المرجعية للبالغين.

ملاحظة: إذا كان المريض مصاباً بالتجفاف فإن قياس سرعة التثفل يصبح ذا قيمة قليلة.

القيم المرتفعة

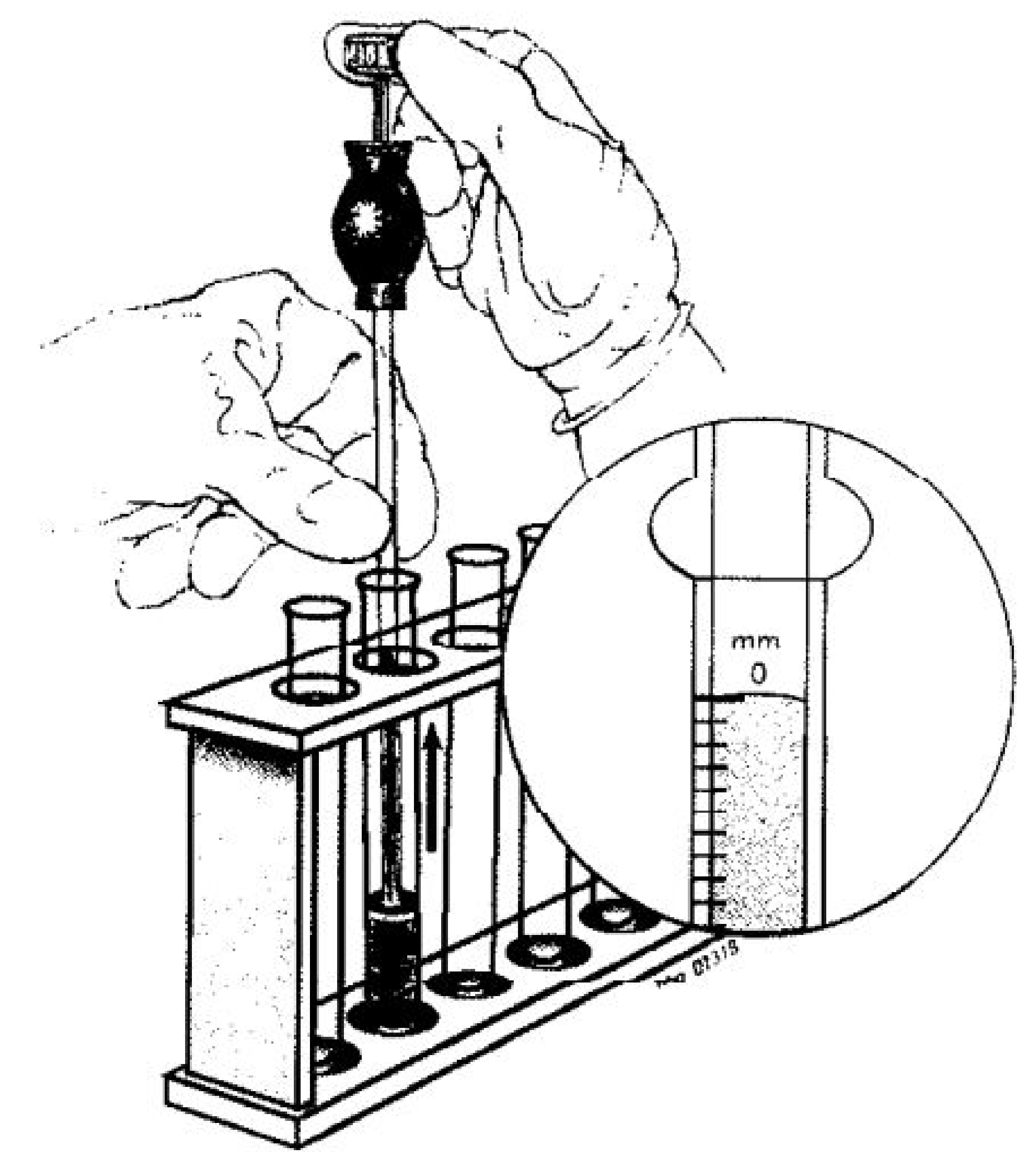
إن أي مرض يُحدِث تَبَدُّلاً في بروتينات البلازما يؤدي إلى ازدياد سرعة التثفل، ومن الأمراض التي تسبب ذلك العداوى الحادة والمزمنة، واحتشاء العضل القلبي، والتهاب المفاصل الروماتوئيدي.

تزداد سرعة التثفل أيضاً في المرضى الذين يعانون من فقر الدم (ص 285).

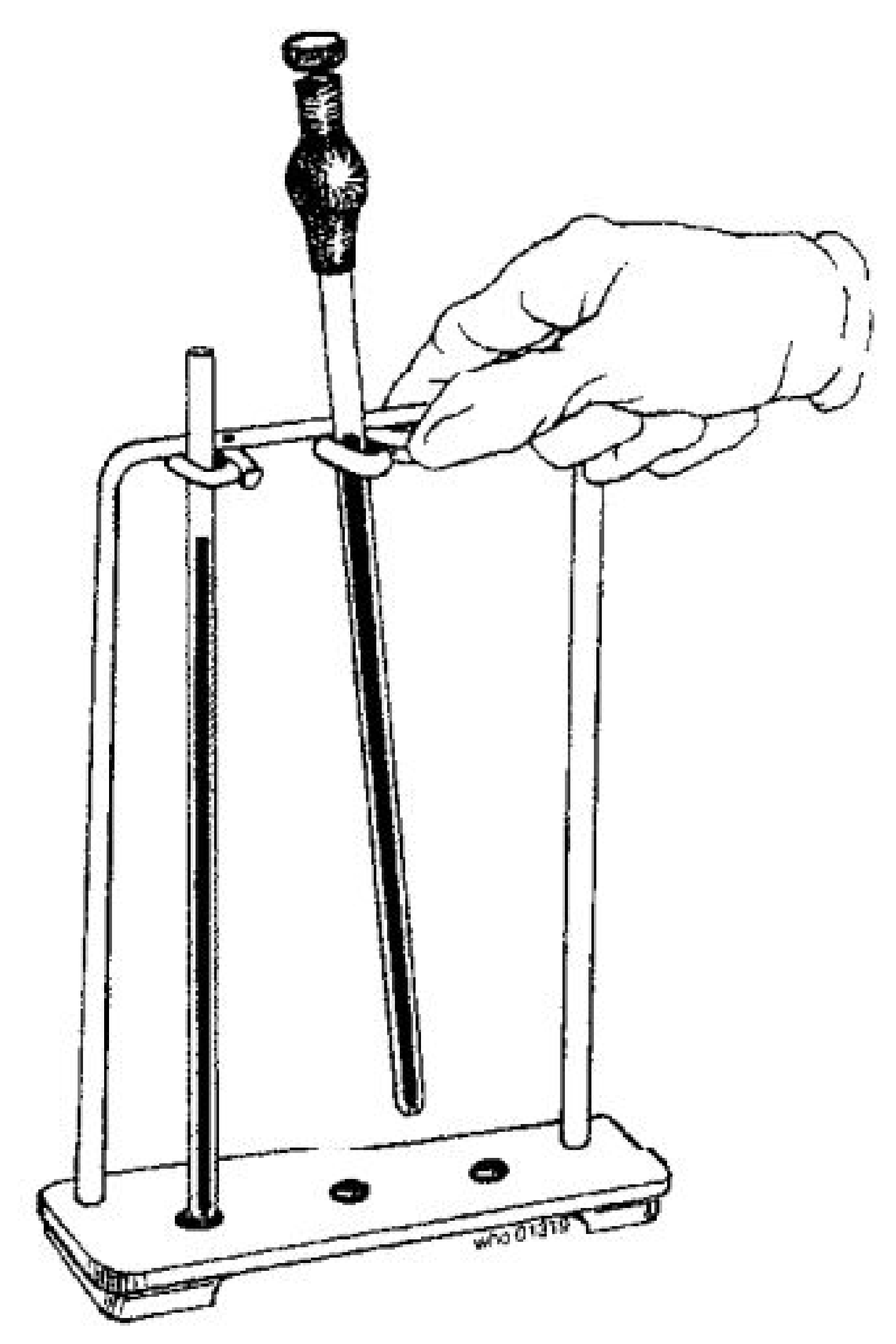
الجدول 9.9. سرعة تثفل الكريات الحمر* ESR بحسب الفئة العمرية.

الفئة العمرية	سرعة التثفل (م/ساعة)
البالغون (< 50 سنة):	
الرجال	15 >
النساء	20 >
البالغون (> 50 سنة):	
الرجال	20 ≥
النساء	30 ≥

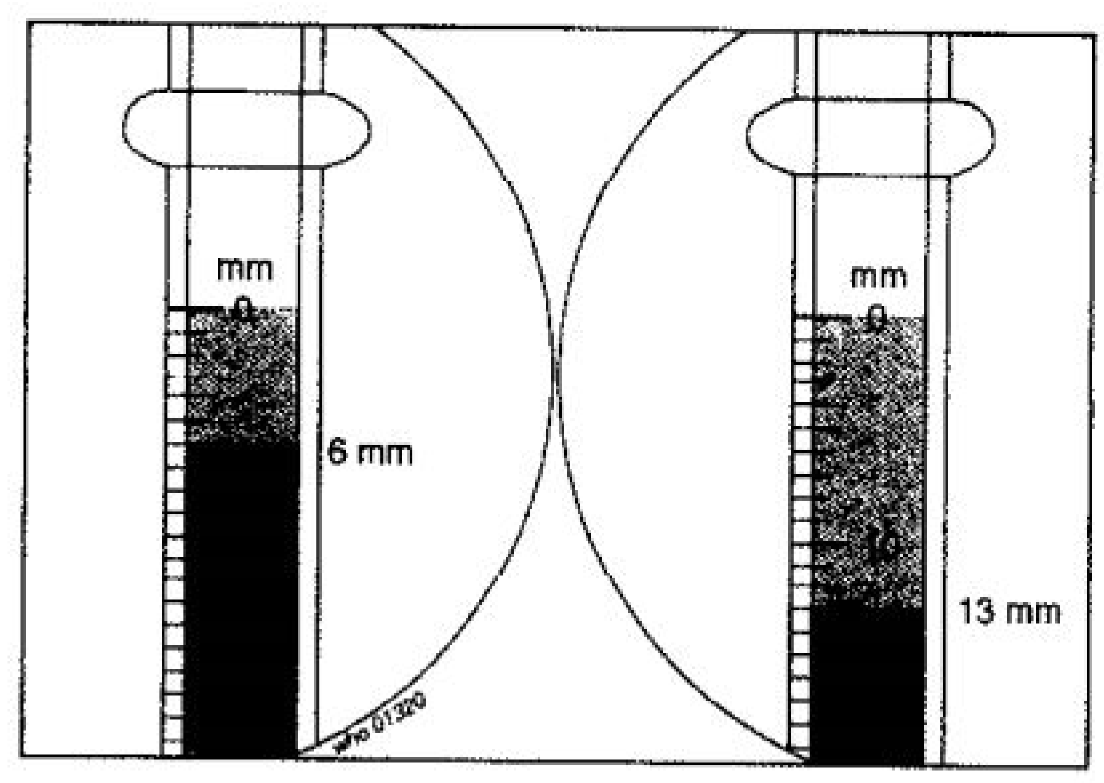
* في حرارة محيطية 25 م.



الشكل 47.9. سحب الدم السيتراتي إلى العلامة 0 م ومن أنبوب وسترغرين.



الشكل 48.9. وضع أنبوب وسترغرين على حامل الأنابيب مع التأكد من كون الأنبوب في وضع قائم تماماً.



الشكل 49.9. قياس ارتفاع عمود البلازما.

تحدث قيم مرتفعة جداً لسرعة التثفل في السل، وداء المثقبيات، والأمراض الخبيثة. كما تزداد سرعة التثفل في الحمل.

8.9 قياس زمن النزف: طريقة ديوك

1.8.9 المبدأ

يُجرى شَقّ صغير بواخزة في شحمة الأُذن فيسيل الدم من الوَخْزَة، ويُقاس الزمن الذي يستغرقه الدم ليتوقف عن النزف.

يُجرى هذا الاختبار:

- لتشخيص بعض الاضطرابات النزفية؛
- قبل إجراء العمليات الجراحية؛
- قبل بَزْل الكبد أو الطحال.

2.8.9 المواد

- واخزات عقيمة
- شرائح مجهرية
- ورق ترشيح (أو ورق نَشّاف)
- ساعة مؤقت stopwatch إن وجدت، وإلا فساعة ذات عقرب للثواني.
- أثير

3.8.9 الطريقة

1. تُنَظَّف شَحْمَة الأذن بلطف بقُطْنَة مُبَلَّلَة بالأثير (الشكل 50.9)، ويُجْتَنَب فَرْك الأذن، ثم تُترك لتجف.
2. توخَز شحمة الأُذن (الشكل 51.9). ينبغي أن يسيل الدم بسهولة دون أي حاجة إلى عَصْر شحمة الأذن. يشَغَّل المؤقت.
3. بعد 30 ثانية تُلْتَقَط القطرة الأولى من الدم على زاوية ورقة الترشيح (الشكل 52.9)، مع اجتناب لمس الجلد بالورقة.
4. ينتظَر 30 ثانية أخرى: تُلتقَط قطرة الدم الثانية بنفس الطريقة بجانب القطرة الأولى على ورقة الترشيح (الشكل 53.9).



الشكل 50.9. تنظيف شحمة الأذن بالأثير.



الشكل 51.9. وخز شحمة الأذن.

5. يُثابَر على التقاط قطرات أخرى من الدم كل 30 ثانية. يصغر حجم القطرات شيئاً فشيئاً (الشكل 54.9).
6. عندما يتوقف انسياب الدم تُوَقَف الميقافية (أو يُسَجَل وقت الساعه).

وتعمد طريقة أُخرى إلى عد القطرات على ورقة الترشيح وضربها بـ 30 ثانية (الشكل 55.9).

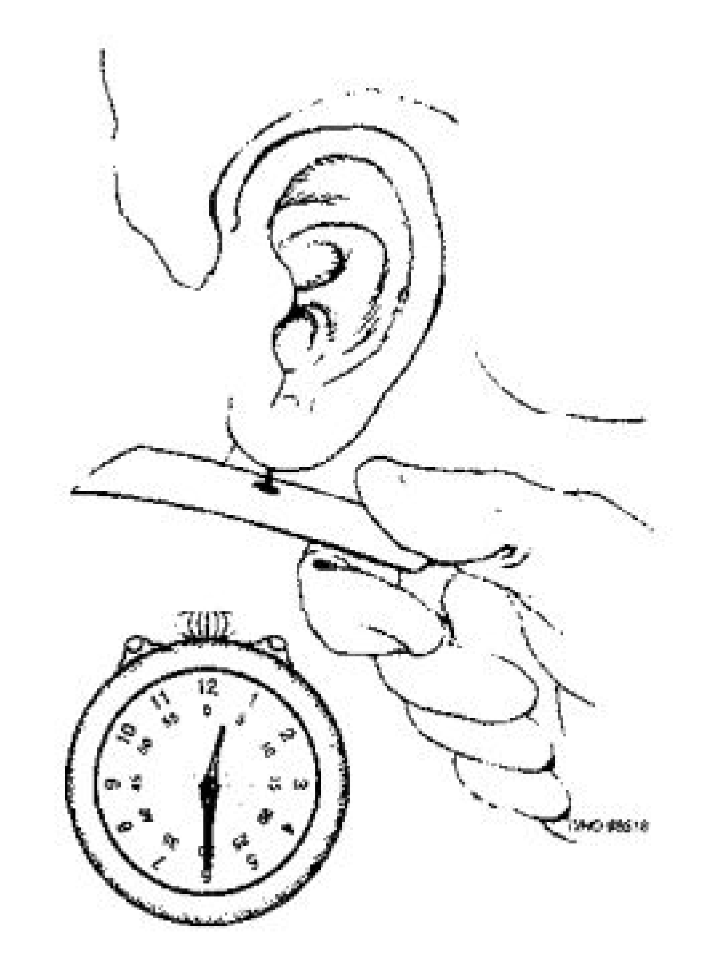
مثلاً: إذا وجدت 7 قطرات فزمن النزف هو 7×30 ثانية = 3.5 دقيقة.

4.8.9 النتائج

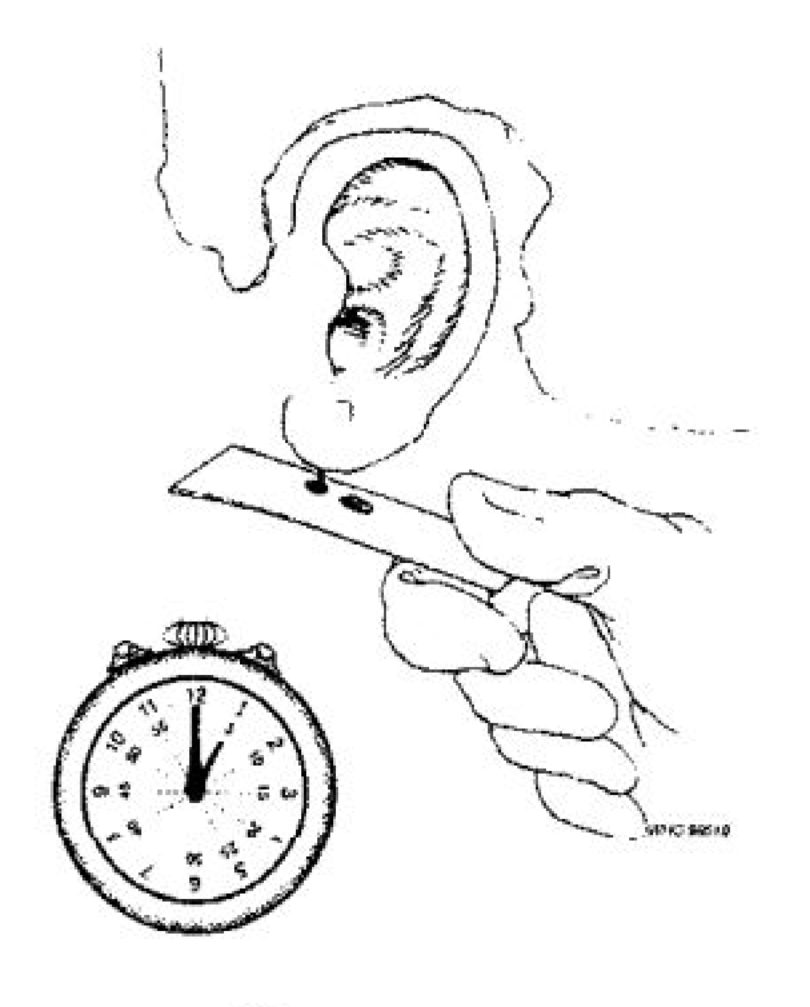
يُسَجَل زمن النزف مُقَرَّباً إلى أقرب نصف دقيقة.

ويُذكر أيضاً المجال المرجعي للطريقة المستعملة، مثلاً: زمن النزف 3.5 دقيقة (مجال السواء بطريقة ديوك: 1-5 دقائق).

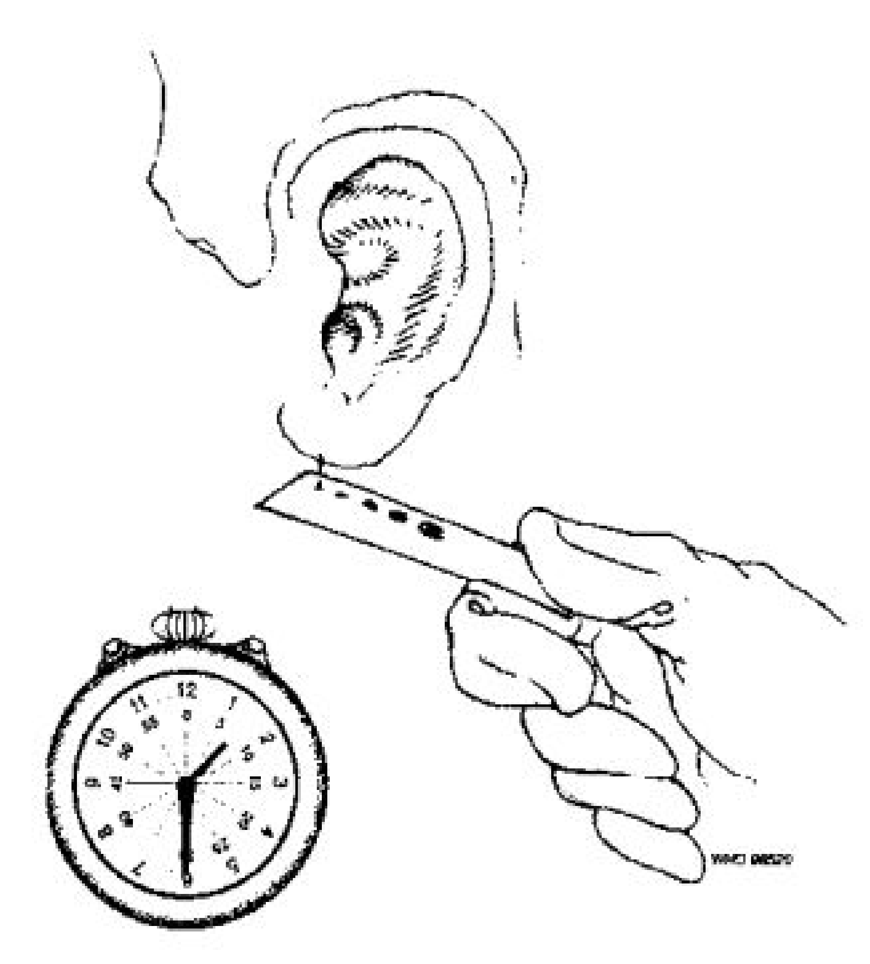
إذا كان زمن النزف متطاولاً يُفْحَص فِلْم دموي رقيق مُلَوَّن بمُلَوِّن رومانوفسكي (الفقرة 10.9) لرؤية ما إذا كان عدد الصفيحات يبدو أقل من السوي (وينبغي أن يُستعمل الدم الوريدي).



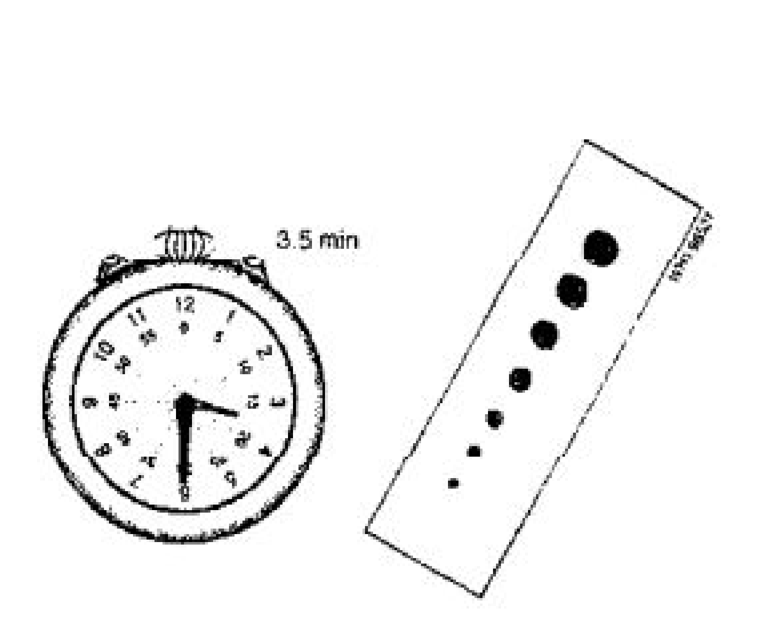
الشكل 52.9. بعد 30 ثانية تُلتقط القطرة الأولى من الدم.



الشكل 53.9. بعد دقيقة واحدة تُلتقط القطرة الثانية من الدم.



الشكل 54.9. يُثابر على التقاط قطرات أخرى من الدم كل 30 ثانية.



الشكل 55.9. حساب زمن النزف.

9.9 ملاحظة انكماش الجُلْطَة وقياس زمن انحلالها

1.9.9 المبدأ

تُستعمل أنابيب الدم المتجلط:

- لملاحظة انكماش الجلطة،
- لقياس الزمن الذي تستغرقه الجلطة لتذوب (تنحل).

ويُجرى هذان الاختباران لتشخيص بعض الأمراض النزفية.

2.9.9 المواد

- أنابيب زجاجية بقياس 75 × 10 مم، مُعَلَّمة لاحتواء 1 مل.
- مُؤَقِّت
- حامل معدني
- حمام مائي
- مواد لإجراء بزل الوريد (الفقرة 2.2.9)

3.9.9 الطريقة

أخذ النماذج

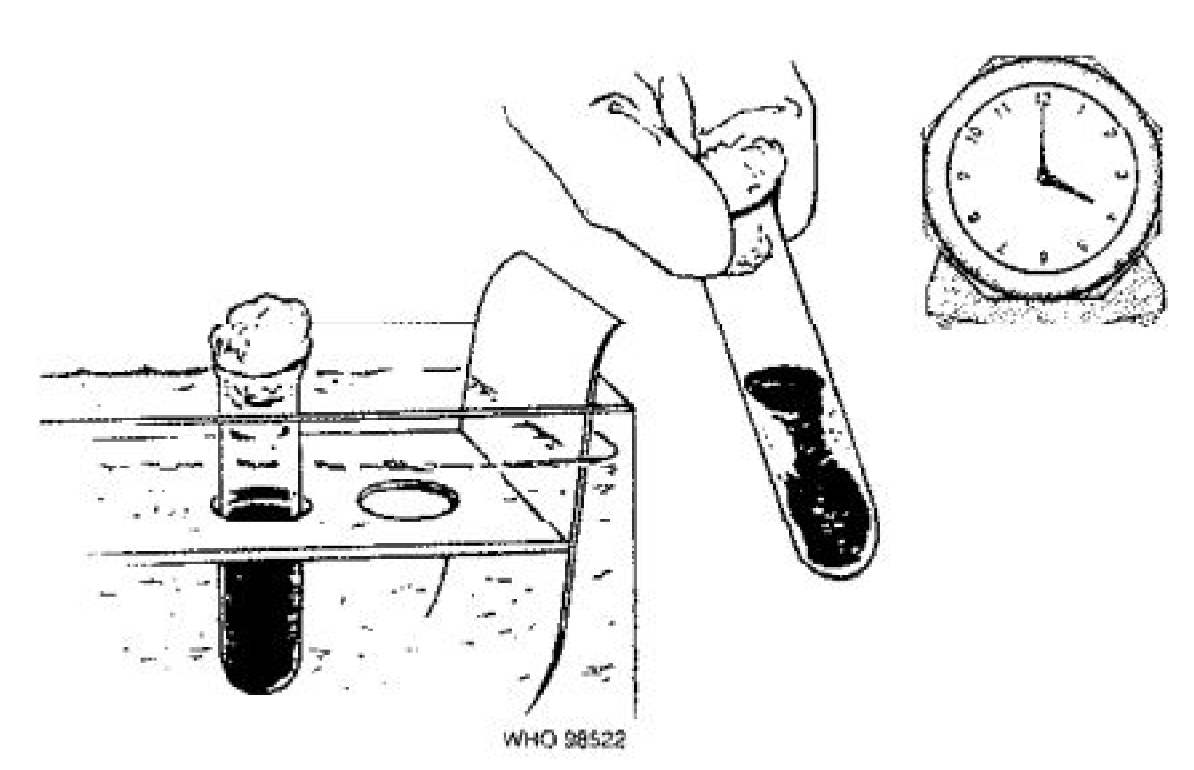
يؤخذ الدم الوريدي من المرضى مثلما وصف في الفقرة 2.9. ويجب عدم إضافة مضاد تخثر إلى الأنابيب.

طريقة ملاحظة انكماش الجلطة

1. توضع الأنابيب في الحمام المائي بحرارة 23 س (أو تُتْرَك بحرارة الغرفة).
2. تُفحص الجلطة بعد 1 و 2 و 3 و 4 ساعات: تبقى الجلطة في الحالة السوية متماسكة في غضون الساعات الأربع الأولى، ولو أنها تبدأ بالانكماش في الساعة الأولى عادةً. وبعد أربع ساعات ينبغي أن تكون قد انكمشت، بحيث تنفصل كتلة الكريات الحمر عن المصل الأصفر (الشكل 56.9).

طريقة قياس زمن الانحلال

1. يوضع الأنبوب المحتوي على الدم في الحمام المائي بحرارة 37 س (أو بحرارة الغرفة).
2. تُفحص الجلطة بعد 12 و 24 و 48 و 72 ساعة إلى أن يحدث الانحلال، أي إلى أن تذوب الجلطة بأكملها وتترسب الكريات الحمر جميعاً في قاع الأنبوب (الشكل 57.9).

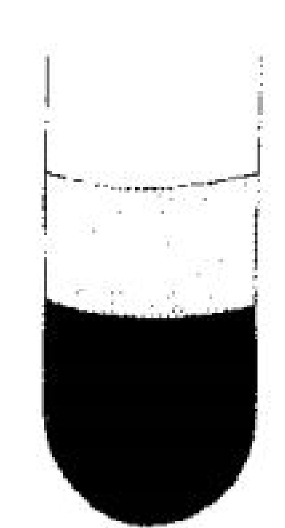


الشكل 56.9. تفحص الجلطة بعد أربع ساعات.

4.9.9 النتائج

انكماش الجلطة السوي

تنفصل الجلطة الحمراء جيداً وتكون في السطح ملتصقةً بجوانب الأنبوب (الشكل 58.9)، وقد يوجد راسب صغير من الكريات الحمر في قاع الأنبوب لا ينبغي أن يتعدى ثخنه 5 مم.

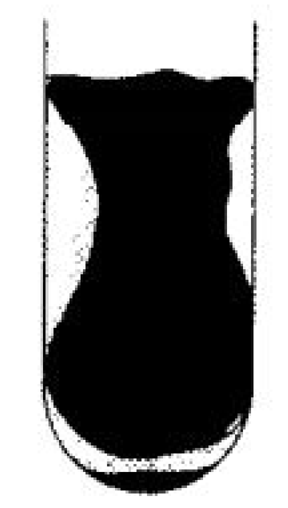


الشكل 57.9. الانحلال.

انكماش الجلطة الشاذ

الدم المعوز للفِبْرينوجين

إذا كان الدم مُعْوزاً للفِبْرينوجين توجد جلطة حمراء صغيرة في قاع الأنبوب ليست ملتصقة بالضرورة بجوانب الأنبوب، وتكون محاطة بكريات حمر متثفلة ومغطاة بسائل طافٍ (الشكل 59.9).



الشكل 58.9. انكماش الجلطة السوي.

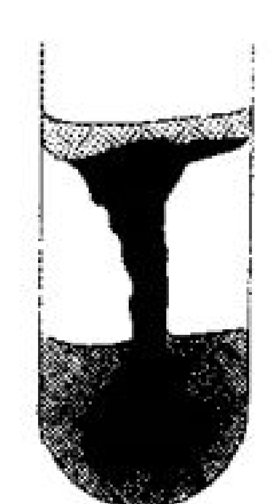
الدم المعوز للصفيحات

إذا كان الدم مُعْوِزاً للصفيحات توجد جلطة حمراء تبقى ملتصقة برُمَّتِها بجدران الأنبوب أو تكاد، وقد انكمشت قليلاً جداً إن انكمشت (الشكل 60.9)، و لم يَنْفَصِل من المصل إلا القليل.

(يُفحص فِلْم دموي رقيق ملون بملون رومانوفسكي باستعمال الدم الوريدي، الفقرة 10.9).

البروتينات البلازمية الشاذة

تسبب البروتينات البلازمية الشاذة تخثّرَ البلازما، ويبدو ذلك بشكل جلطة صفراء: بلازما مُتَجلِّطَه (متخثرة)، وتوجد تحتها جلطة حمراء قليلة الانكماش (الشكل 61.9).



الشكل 59.9. الدم المعوز للفبرينوجين.

الناعور

إذا لم توجد أي جلطة أو كانت هناك جلطة صفراء تتشكل ببطء شديد فوق راسب من الكريات الحمر (الشكل 62.9) فَمَرَدُّ ذلك إلى عوز خطير في عامل التخثر شأنَ ما يحدث في الناعور.

والناعور مرض نزفي وراثي يصيب الذكور.

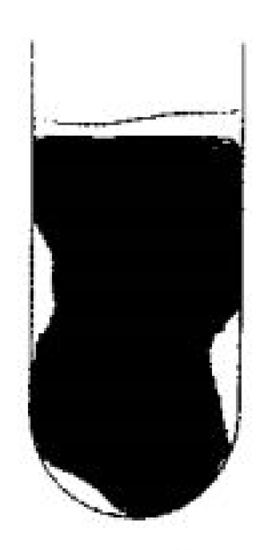
تسجل نتيجة انكماش الجلطة كما يلي:

- انكماش سوي؛
- انكماش مرضي، مع وصف الجلطة.

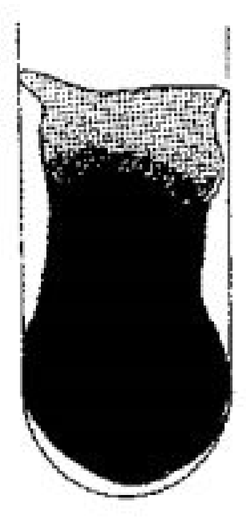
زمن الانحلال

إن الزمن السوي لتذوب الجلطة هو 72 ساعة أو أكثر؛ على أن زمن الانحلال يمكن أن ينقص في بعض الحالات إلى 48 ساعة أو أقل. فمثلاً في المرضى المصابين بداء انحلال الفِبْرين الحاد يمكن أن تذوب الجلطة في غضون 1–4 ساعات.

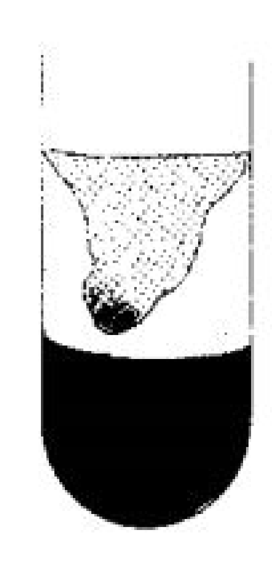
يُسَجَّل زمن انحلال الجلطة بالساعات.



الشكل 60.9. الدم المعوز للصفيحات.



الشكل 61.9. الدم المحتوي على بروتينات بلازمية شاذة.



الشكل 62.9. الناعور.

10.9 تحضير وتلوين أفلام الدم الرقيقة

1.10.9 المبدأ

تُحَضَّر لُطاخَة رقيقة بفَرْش قطرة صغيرة من الدم فرشاً مُتَناسقاً على شريحة بحيث توجد طبقة واحدة من الخلايا فحسب.

تَلَوَّن أفلام الدم الرقيقة بواسطة المُلَوِّنات الرومانوفسكية التي تحتوي على صِبْاغَيْن أساسيين: الآزور (اللازَوَرْد) B واليوزين.

وفيما يلي أكثر الملونات الرومانوفسكية استعمالاً:

- ملون ليشمان وملون رايت اللذان يعطيان نتائج متماثلة ويُستعملان لوحدهما.
- ملون ماي–غرونفالد وملون جِنَر اللذان يعطيان نتائج متماثلة ويُستعملان مع ملون غيمزا.
- ملون غيمزا الذي يمكن أن يُستعمل لوحده أو مع ملون ماي–غرونفالد أو ملون جِنَر.
- مُلَوِّنا فيلد آ و ب اللذان يُحَضَّران بالماء خلافاً لسائر الملونات الآنفة الذكر التي تُهَيَّأ في الميثانول، ويُستعمل ملونا فيلد لكل من الأفلام الدموية الرقيقة والقطرات الثخينة.

إن الملونات الرومانوفسكية المُحَضَّرَة بالميثانول يمكن استعمالها لتثبيت الأفلام الرقيقة قبل تخفيفها على الشرائح من أجل تلوين الأفلام، ويمكن الحصول على نتائج أفضل بتثبيت الفلم أولاً بالميثانول ثم تلوينه بالملونات المُخَفَّفَة المُحَضَّرَة مسبقاً كما هو موصوف أدناه.

وتُستعمل الأفلام الدموية بعد تلوينها من أجل:

– تعيين الكسور العددية لأنماط الكريات البيض (الفقرة 13.9)،
– كشف الكريات الحمر الشاذة (الفقرة4.10.9)،
– استعراف بعض الطفيليات (الفقرة 7.4)،
– تقدير عدد الصفيحات (الفقرة 14.9).

2.10.9 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح زجاجية (يجب أن تكون مغسولة جيداً، وإن لزم، منظفة بالإيثانول أو الإثير بواسطة قطعة من النسيج الطري (الشكل 63.9))
- مصباح كحولي أو ملهب بنزن
- فارش زجاجي
- واخزة
- عودان زجاجيان
- أسطوانة قياس سعة 50 أو 100 مل
- قوارير أو دوارق تحوي ماء صنبور نظيف
- قارورة غاسلة تحوي ماء مدروء (الكاشف رقم 15)
- مؤقت
- رفرف للشرائح الجافة
- ملون فيلد (الكاشف رقم 25)
- ملون غيمزا (الكاشف رقم 29)
- ملون ليشمان (الكاشف رقم 34)
- ملون ماي–غرونفالد (الكاشف رقم 38)
- محلول ملح الأديتات ثنائية البوتاسيوم 10% (الكاشف رقم 22)
- ميثانول
- إيتانول 70% أو اثير



الشكل 63.9. تنظيف الشرائح لاستخدامها لعمل أفلام دم رقيقة.

لعمل فارِشَة زجاجية تُنْتَقَى شريحة ذات حافة ملساء تماماً. تُرْسَم علامة مائلة على كل من زاويتَيْ إحدى نهايتي الشريحة بواسطة منشار الإبر. وتُقْصَف الزاويتان المذكورتان. (الشكل 64.9)

3.10.9 الطريقة

أخذ النماذج

يؤخذ الدم من جانب الإصبع الوسطى أو البنصر كما يبدو في الشكل 29.9.

يُترَك الدم لينساب بطلاقة، وتؤخذ في البدء نماذج عينات لتعيين التراكيز المطلقة للكريات الدموية إن أمكن (الفقرتان 5.9 و 6.9).

ملاحظة هامة: لا يؤخذ الدم من:

– السبابة أو الإبهام.

– إصبع مصابة بالعدوى (مثلاً: داحس).

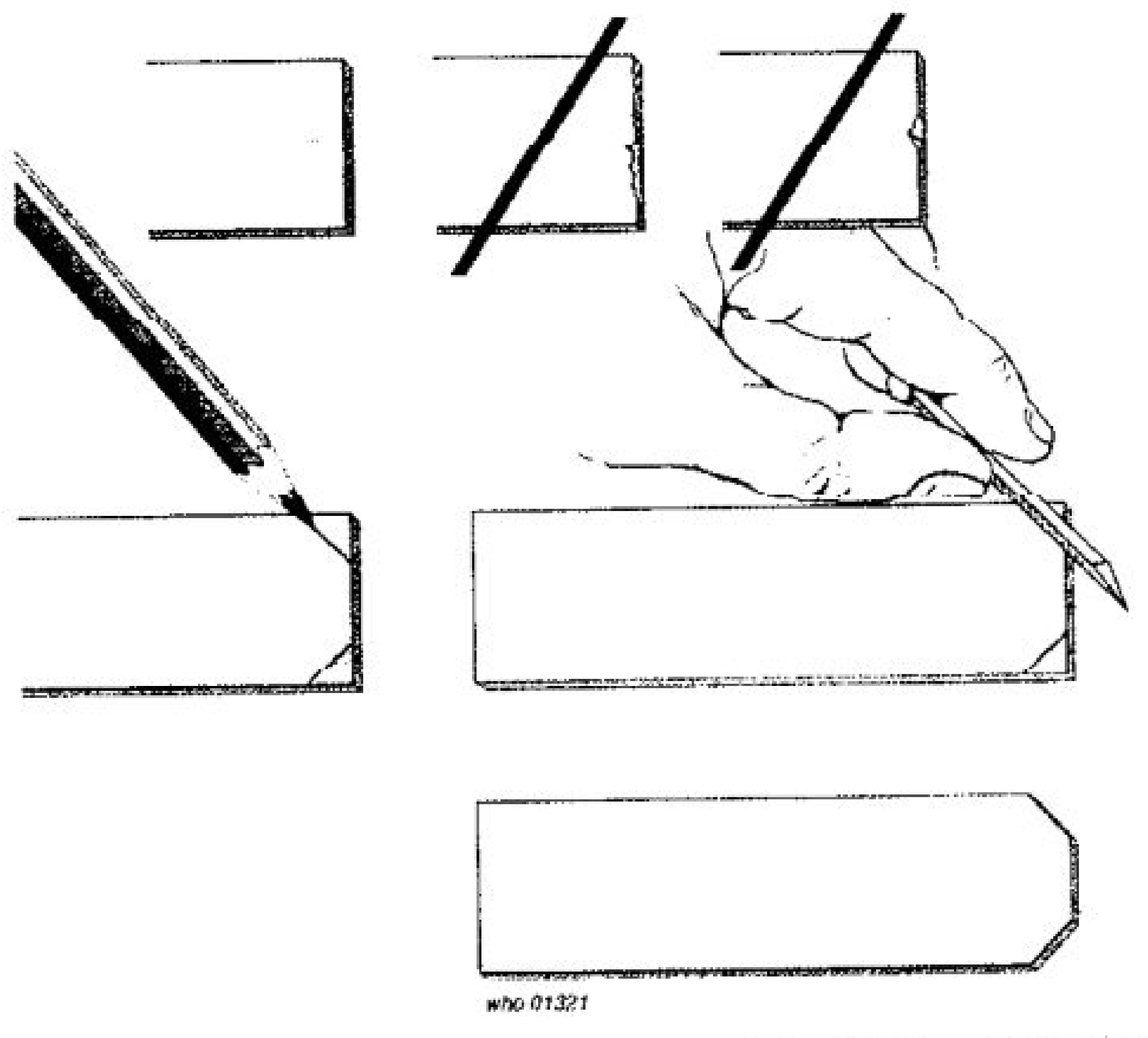
– الأذن (يحتوي الدم على كثير من الوحيدات).

إذا لم يكن بالإمكان تحضير الفلم خلال 1–2 ساعة من أخذ نموذج الدم، يجب إضافة محلول ملح الأديتات ثنائية البوتاسيوم. لا يُستعمل إلا محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات، أما مضادات التخثر الأخرى فإنها تُغَيِّر مظهر الكريات البيض والصفيحات ويجب عدم استعمالها.

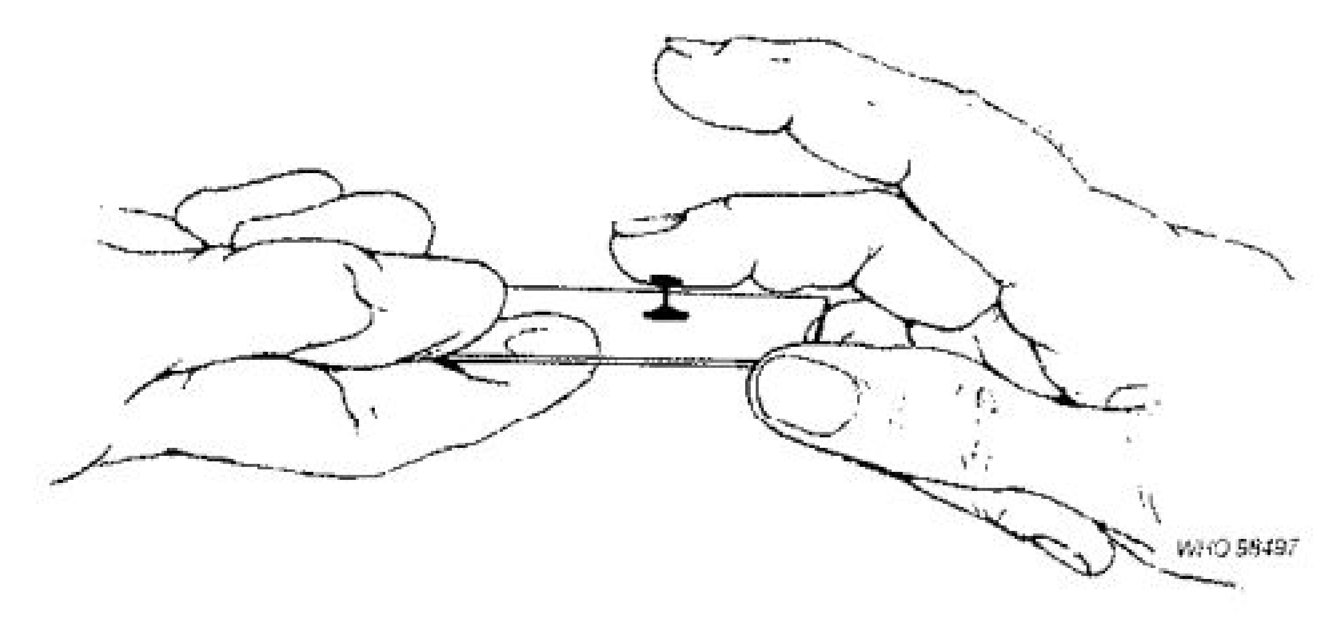
تهيئة الفلم

1. تؤخذ قطرة من الدم بقطر حوالي 4 مم وذلك بلمسها بلطف بإحدى نهايتي الشريحة (الشكل 65.9).

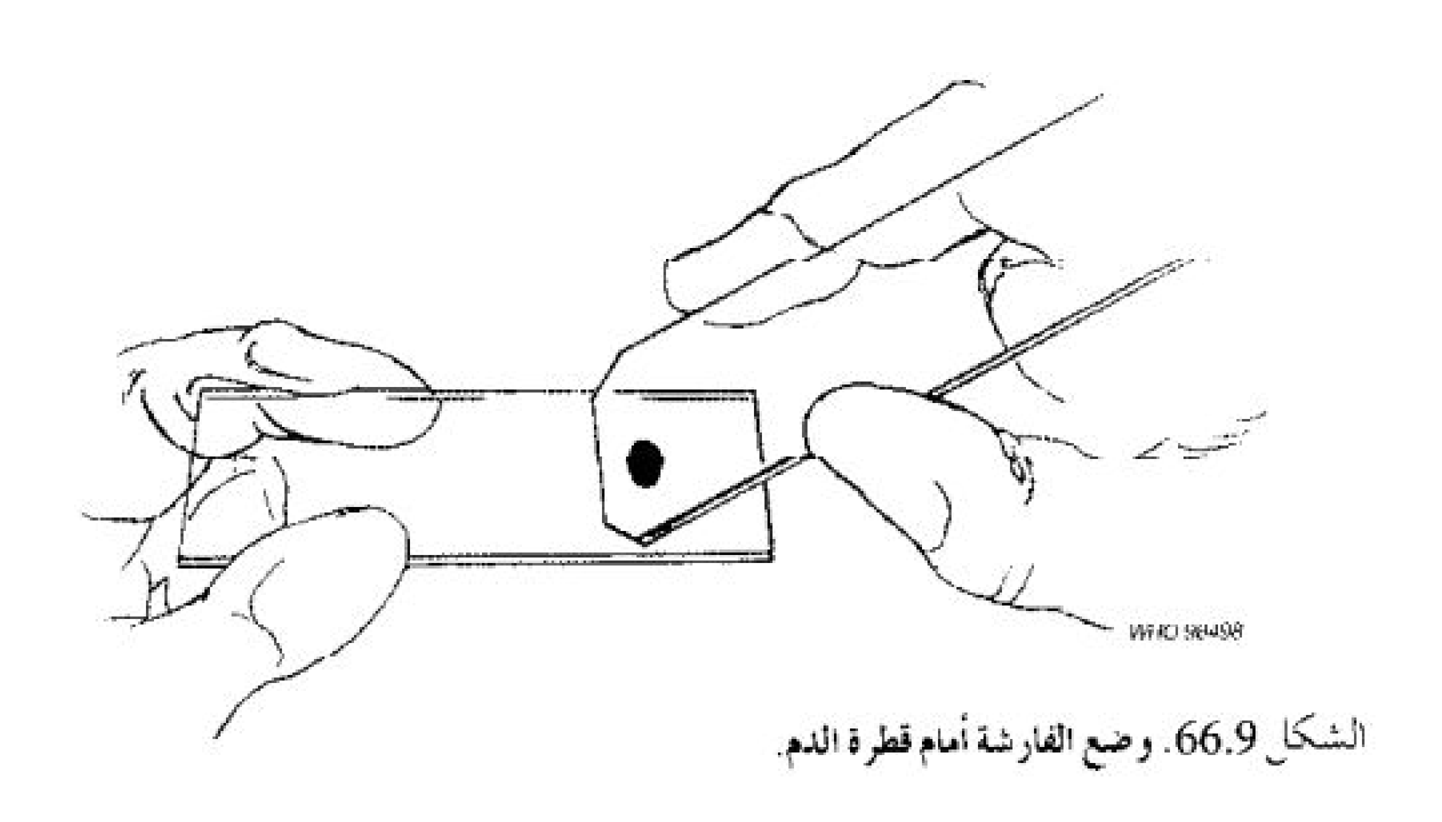
2. تُمسَك الشريحة بإحدى اليدين، وتُستعمل اليد الأخرى لوضع حافة الفارِشَة أمام قطرة الدم مباشرة (الشكل 66.9).



الشكل 64.9. **عمل فارشة زجاجية.**

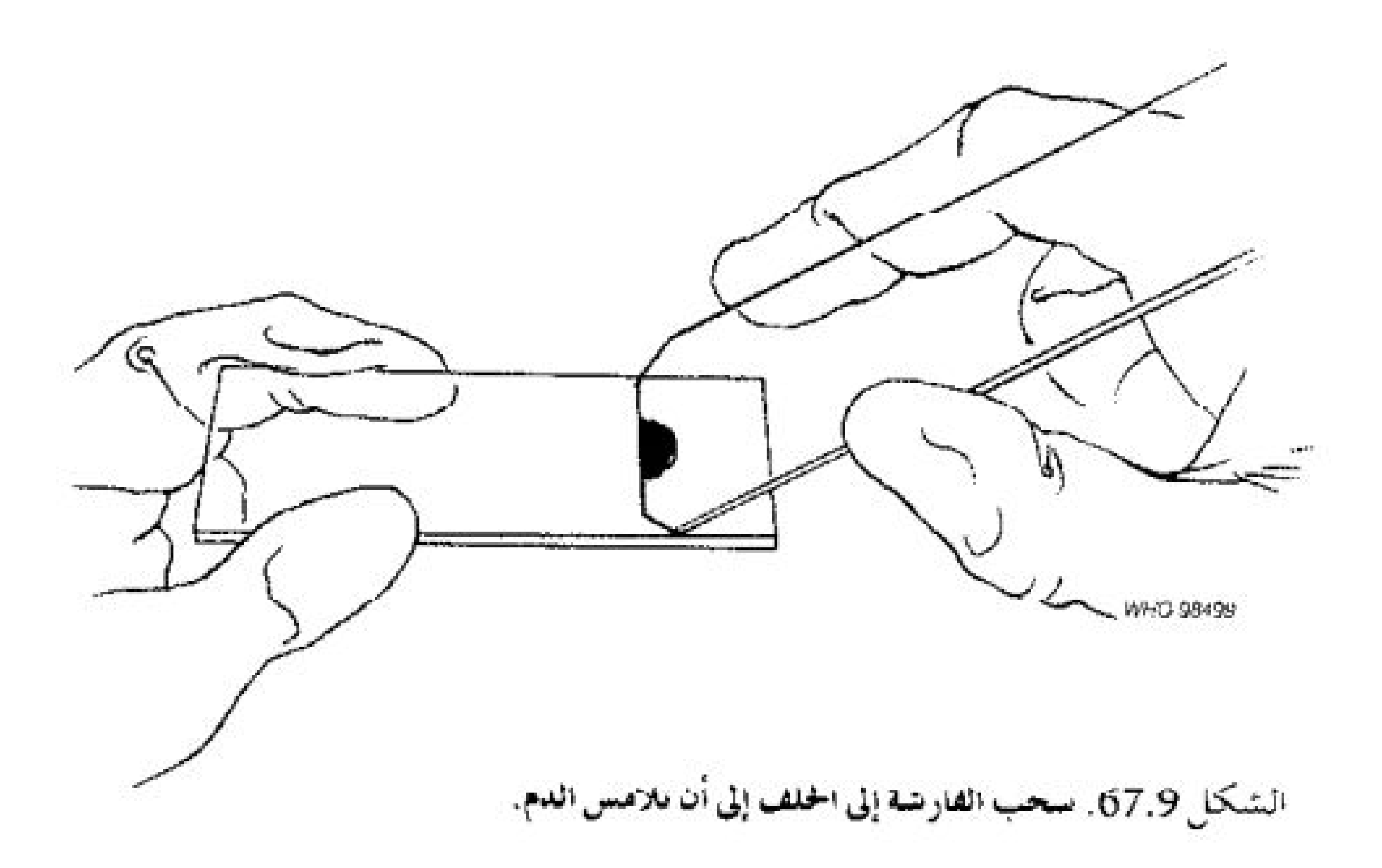


الشكل 65.9. **أخذ قطرة من الدم على شريحة.**

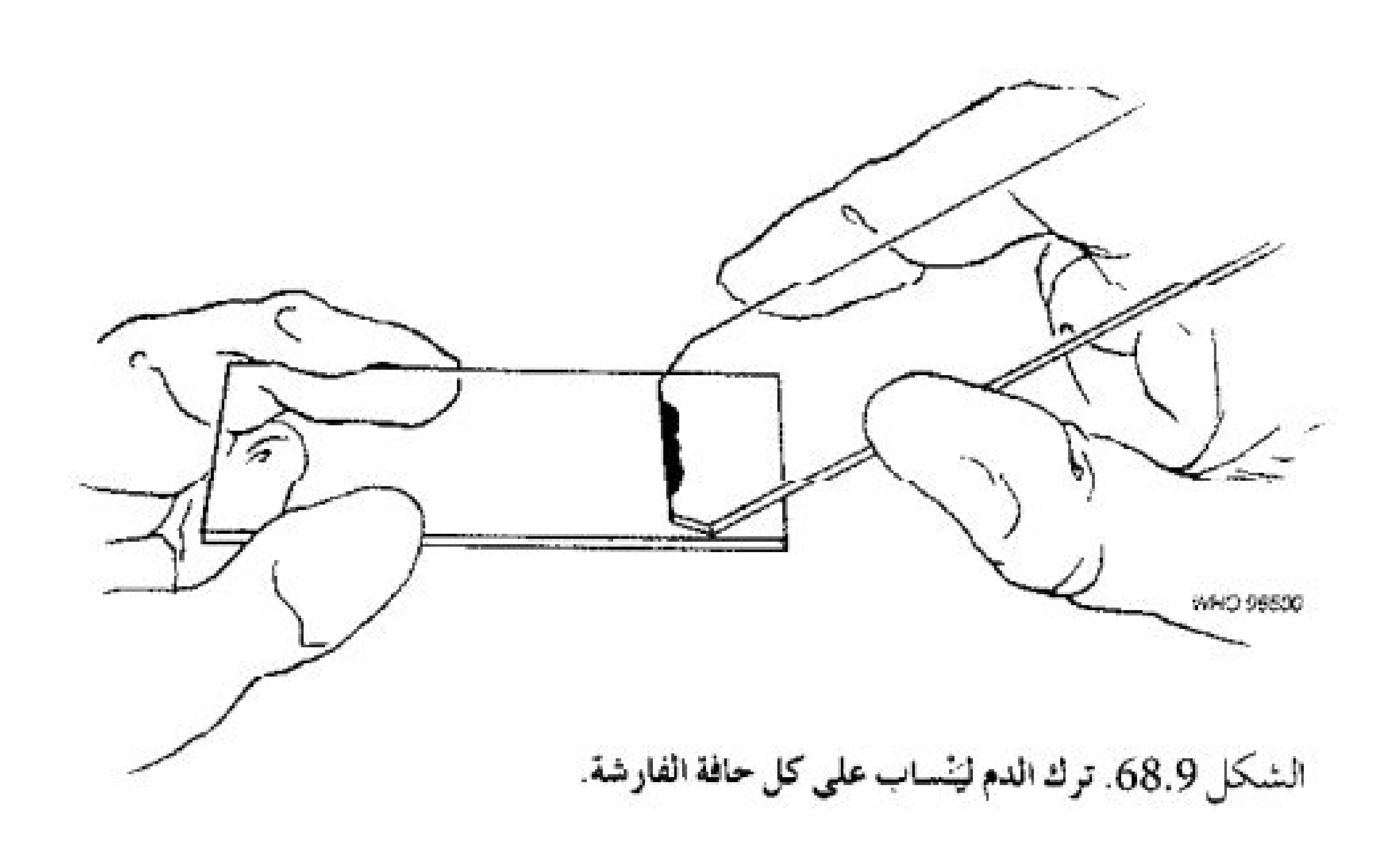


الشكل 66.9. **وضع الفارشة أمام قطرة الدم.**

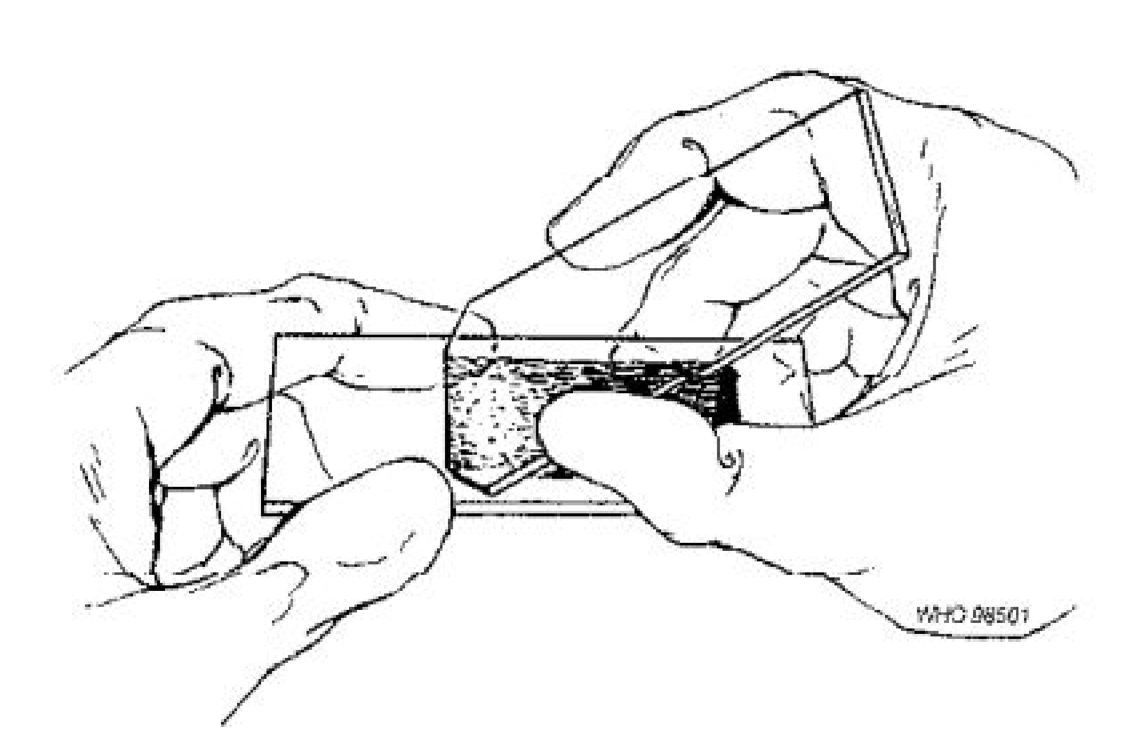
3. تُسحب الفارشة إلى الخلف إلى أن تلامس قطرة الدم (الشكل 67.9).
4. يُترَك الدم لينْساب على كل حافة الفارشة (الشكل 68.9).
5. تُدْفَع الفارشه نحو نهايه الشريحة بحركة لطيفة (الشكل 69.9) وينبغي استعمال الدم كله قبل بلوغ النهاية. كما ينبغي أن يُفْرَش دم المصابين بفقر الدم بسرعة أكبر.



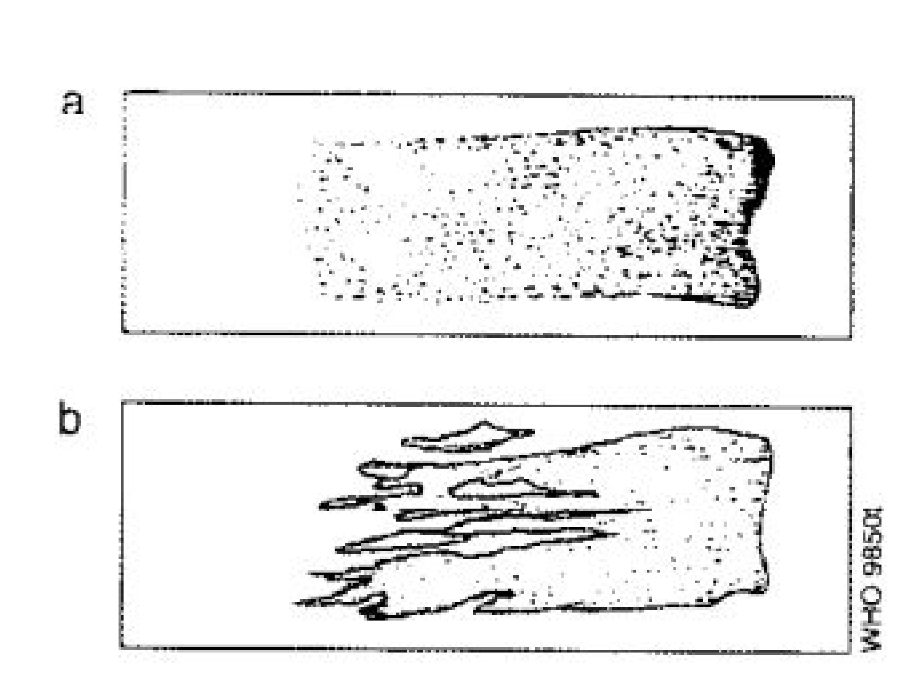
الشكل 67.9. سحب الفارشة إلى الخلف إلى أن تلامس الدم.



الشكل 68.9. ترك الدم لينساب على كل حافة الفارشة.



الشكل 69.9. تدفع الفارشة إلى نهاية الشريحة بحركة ناعمة.



الشكل 70.9. أفلام دموية محضرة بشكل صحيح (a) وخاطئ (b).

6. ينبغي التحقق من أن الفلم مقبول كما يبدو في الشكل 70.9 (a):
- يجب أن لا تكون هنالك خطوط ممتدة عبر الفِلْم أو خلاله.
- يجب أن يكون الفلم أملساً في نهايته، لا مُشَرْشَراً كما يبدو في الشكل 70.9 (b).
- ينبغي أن لا يكون الفلم طويلاً جداً.
- أن لا يكون ثخيناً جداً.
- يجب ألا يحتوي على فجوات من جَرّاء استعمال شريحة شحمية.

إن حُسْن فَرْش الفلم أمر ملاحظة هامة للغاية، فالفلم السيئ الفرش يعطي نتائج خاطئة للكسور العددية لأنماط الكريات البيض ويجعل من المتعذر وصف شكل الكريات الحمر.

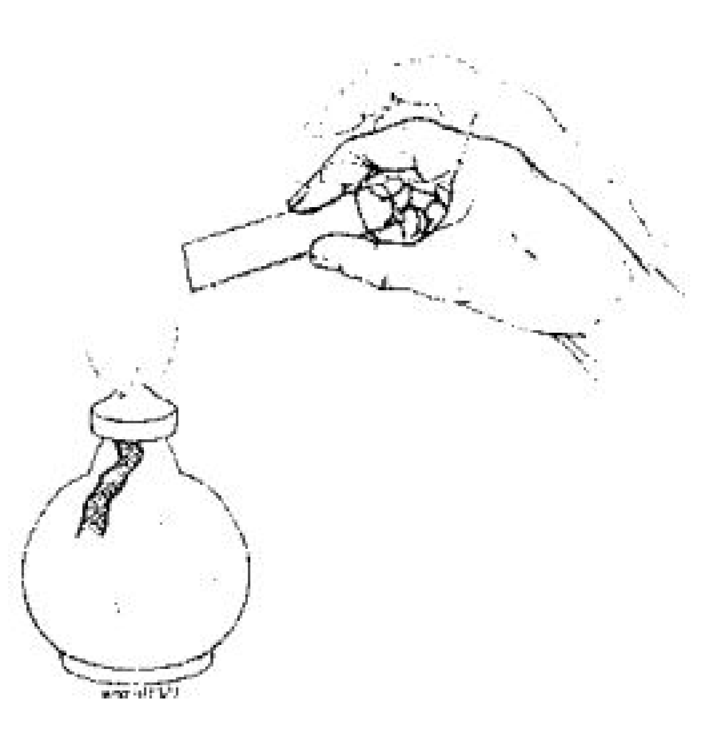
تجفيف الفلم

إن التجفيف الكافي ضروري للمحافظة على جودة الفلم، وخصوصاً في الأقاليم الرطبة؛ ويمكن ترك الفلم ليجف في الهواء في الأقاليم الجافة.

في الفصل الرطب (في المناطق المدارية)

يُجَفَّف الفلم بتحريكه بسرعة على بعد حوالي 5 سم من لهب مصباح كحولي أو مِلْهَب بنزن: تُمسك الشريحة إلى جانب اللهب وأعلى منه بقليل (على أن لا يكون فوقه مباشرة أبداً) (الشكل 71.9). وينبغي إذا لزم أن يُحْمى الفلم من الذباب.

يُعَنْوَن الفلم الجاف باسم المريض أو رقمه، فيكتب بقلم الرصاص على القسم الثخين من الفلم الذي لا يُستعمل للفحص.



الشكل 71.9. تجفيف فلم باستعمال مصباح كحولي.

تثبيت الفلم

إذا كان المقصود من الفلم تعيين الكسور العددية لأنماط الكريات البيض (الصيغة الكروية) فإنه يجب أن يُثَبَّت بالميثانول قبل التلوين بملون ماي ـ غرونفالد (انظر أدناه).

وإذا كان المقصود من الفلم كشف الطفيليات فإنه يجب أن يُثَبَّت بالميثانول قبل التلوين بملون غيمزا أو فيلد (انظر أدناه).

الاحتياطات

من الضروري الانتباه لتجنب تشكيل رواسب الملون التي تظهر على الفلم بشكل كتل من بُقَع سوداء صغيرة، ومن الضروري أيضاً اتخاذ عدد من الاحتياطات لتجنب التلوين الذي يجعل من الأفلام زرقاء كثيراً أو زهرية كثيراً أو قاتمة كثيراً، وهذه الاحتياطات مذكورة باختصار فيما يلي:

- تُستعمل زجاجيات نظيفة تماماً: فتُغْسَل كل يوم، ولا يُستعمل الحمض، وتُزال رواسب الملون بالميثانول.
- يُستعمل الماء المتعادل (المدروء إن أمكن): طريقة التحضير موصوفة في الفقرة 4.4.2. فالماء الحمضي يجعل الفلم أحمر كثيراً، والماء القلوي يجعل الفلم أزرق كثيراً. وينبغي أن يُحَضَّر الماء المتعادل طازجاً لأنه يصبح حمضياً مع تَعَرُّضه للهواء.

تلوين الفلم

طريقة التلوين بملون ليشمان

1. يُثَبَّت فلم الدم الرفيق بالميثانول مدة 2–3 دقائق.
2. يُهَيَّأ تخفيف لملون ليشمان بنسبة 3:1 باستعمال جزء من الملون وجزأين من الماء المدروء، ويُمزج.

   مثال: يُستعمل 10 مل من الملون و 20 مل من الماء المدروء.

   يُهَيَّأ ملون كافٍ لاستعمال يوم واحد فقط لأن الملون المُخَفَّف لا يَنْحَفِظ جيداً.
3. تُغْمَر الشريحة بالملون المُخَفَّف مدة 7–10 دقائق.

ملاحظة هامة: قد يحتاج زمن التلوين إلى ضَبْط ولا سيما عندما يتم استلام وَجيبَة batch جديدة من الملون أو يكون الملون قد اخْتُزِن مدة طويلة.

4. يُغْسَل المُلَوَّن بتيار من الماء المدروء، ولا يُراق الملون لأن ذلك قد يترك راسباً من المُلَوَّن على الفلم.
5. يُتْرَك الماء النظيف على الشريحة مدة 2–3 دقائق للحصول على تلوين تفريقي للفلم. ويتوقف الزمن اللازم للتلوين التفريقي على الملون وعلى باهاء pH الماء المستعمل.

   ولباهاء الماء أهمية حيوية لتفريق الأنماط المختلفة للكريات البيض بملون ليشمان، فينبغي أن تكون ما بين 6.8 و 7.2 والأفضل ما بين 7.0 و 7.2.
6. يُراق الماء وتوضع الشريحة قائمة في رَفْرَف للاستنضاب حتى تجف.

طريقة التلوين بملون ماي–غرونفالد وملون غيمزا

1. يُثَبَّت الفلم الرقيق بالميثانول مدة 2–3 دقائق.
2. تُحَضَّر الملونات كما يلي:

- يُخَفَّف ملون ماي ـ غرونفالد بنسبة 1:2 باستعمال حجمين متساويين من الملون والماء المدروء، ثم يُمْزَج.

مثال: يُستعمل 10 مل من الملون مع 10 مل من الماء المدروء.

- يُخَفَّف ملون غيمزا بنسبة 1:10 باستعمال حجم واحد من الملون وتسعة حجوم من الماء المدروء، ويُمزج بلطف.

مثال: يُستعمل 2 مل من الملون مع 18 مل من الماء المدروء.

ملاحظة: تُحَضَّر من كل ملون كمية تكفي لاستعمال يوم واحد فقط، لأن الملونات المُخَفَّفَة لا تَنْحفِظ جيداً.

3. تُغْمَر الشريحة بملون ماي ـ غرونفالد المخفف مدة 5 دقائق.
4. يُراق الملون ويستبدل به ملون غيمزا المخفف مدة 10 دقائق.

ملاحظة هامة: قد يحتاج زمن التلوين إلى ضَبْط ولا سيما عندما يتم استلام وَجيبَة batch جديدة من الملون أو يكون الملون قد اخْتُزِن مدة طويلة.

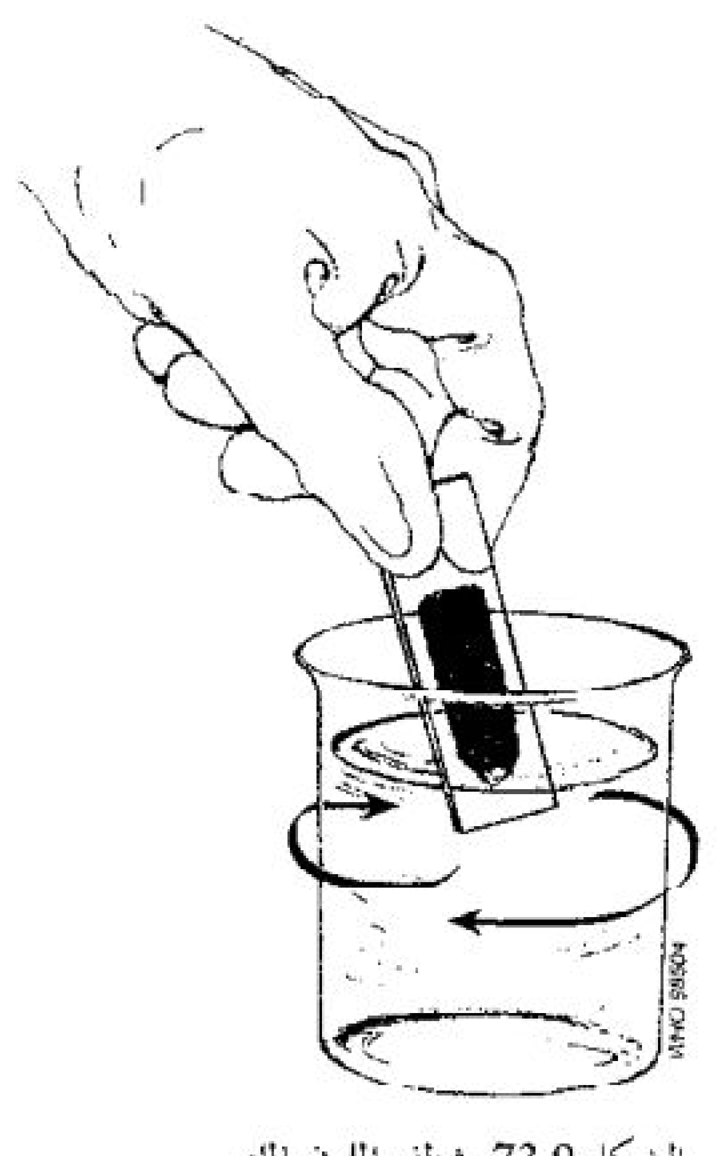
5. يُغْسَل المُلَوّن بتيار من الماء المدروء، ولا يُراق الملون لأن ذلك قد يترك راسباً من المُلَوّن على الفلم.
6. يُتْرَك الماء النظيف على الشريحة مدة 2–3 دقائق للحصول على تلوين تفريقي للفلم. ويتوقف الزمن اللازم للتلوين التفريقي على الملون وعلى باهاء pH الماء المستعمل، ويجب أن تكون الباهاء pH بين 6.8 و 7.0.
7. يُراق الماء وتوضع الشريحة قائمة في رَفْرَف للاستنضاب حتى تجف.

طريقة (سريعة) التلوين بملون فيلد

1. يُثَبَّت الفلم الرقيق بالميثانول مدة 2–3 دقائق.
2. تُغْمَس الشريحة في ملون فيلد ب (الشكل 72.9) ويُعَدّ حتى الخمسة. يُسْتَنْضَب الملون عن الشريحة وتُغْسَل الشريحة في الإناء الأول المحتوي على ماء الحنفية (الشكل 73.9).
3. تُسْتَنْضَب الشريحة وتُغْمَس في ملون فيلد أ ويُعَدّ حتى العشرة. تستنضب وتُغسل جيداً في الإناء الثاني المحتوي على ماء الحنفية.



الشكل 72.9. تلوين فلم الدم بملون فيلد.



الشكل 73.9. شطف الملون بالماء.

4. يُفحص لون الفلم، إذ ينبغي أن يبدو بلون الموف (بنفسجي فاتح) لا أزرق كثيراً ولا زهري كثيراً.
فإذا لم يكن الفلم مقبولاً تُعاد الشريحة إلى ملون فيلد أ أو إلى ملون فيلد ب عدة ثوانٍ أخرى، بحسب الحاجة.
وإذا كان الفلم مقبولاً توضع الشريحة قائمة في رَفْرَف للاستنضاب لتَجفّ.

كيف تُعالَج النتائج السيئة

رواسب ملون ماي ـ غرونفالد أو الماء المتعادل

إن الرواسب التي يسببها ملون ماي ـ غرونفالد أو الماء المتعادل يمكن أن ترى بالعين المجردة في السائل الموضوع على الشريحة. يُسْتَنْضَب الملون ثم تُشطف الشريحة مرتين بالميثانول ثم تُجَفَّف ويُعاد تلوينها باستعمال ملون ماي–غرونفالد الطازج أو المُرَشَّح.

رواسب ملون غيمزا

تُرى هذه الرواسب بالعين المجردة أو بالمجهر. تُشْطَف بالميثانول، ولكن تُغْسَل فوراً بالماء المتعادل، ثم تُجَفَّف الشريحة وتعاد إجراءات التلوين من البداية.

وجود زُرْقة شديدة في الفلم (تَلَوُّن قَعِد)

يُهَيَّأ محلول من حمض البوريك 1% في الإيثانول 95%، وتُشطف الشريحة مرتين في هذا المحلول، ثم تُغْسَل فوراً بالماء المتعادل، ثم تُجَفَّف وتُفحص بالمجهر دون أي معاملة أخرى. ويمكن اتقاء التلوُّن القَعِد هذا في العادة باستعمال الماء المدروء بدرجة أكثر حموضةً من الباهاء pH، أو بتعديل زمن الحصول على التلوين التفريقي إن لزم.

يمكن أن ينجم التلون السيئ أيضاً عن شوائب الأصباغ: ولذلك يوصى باستعمال الملون المِعْياري.

4.10.9 الفحص المجهري

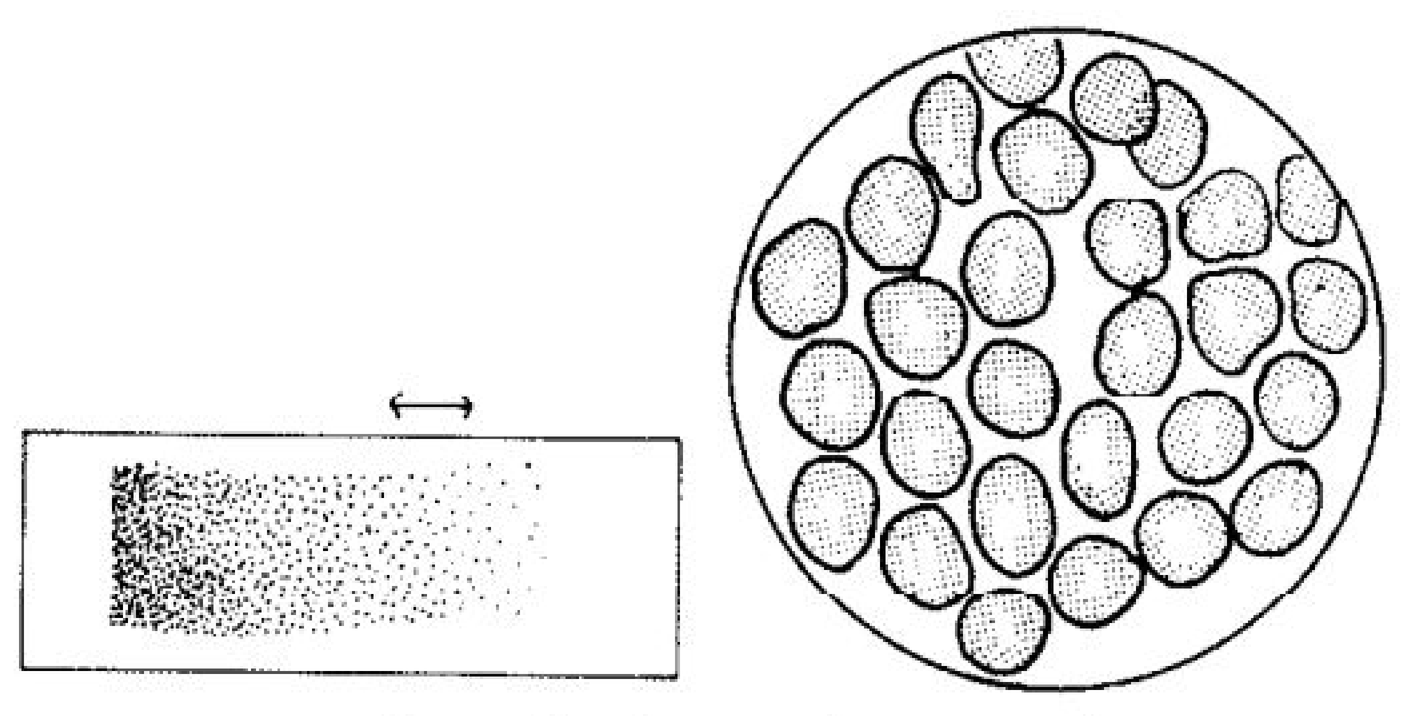
تفحص الشرائح باستخدام الشيئية x40. ويجب أن تبدو الخلايا كما هو موصوف في الجدول 10.9.

الكريات الحمر

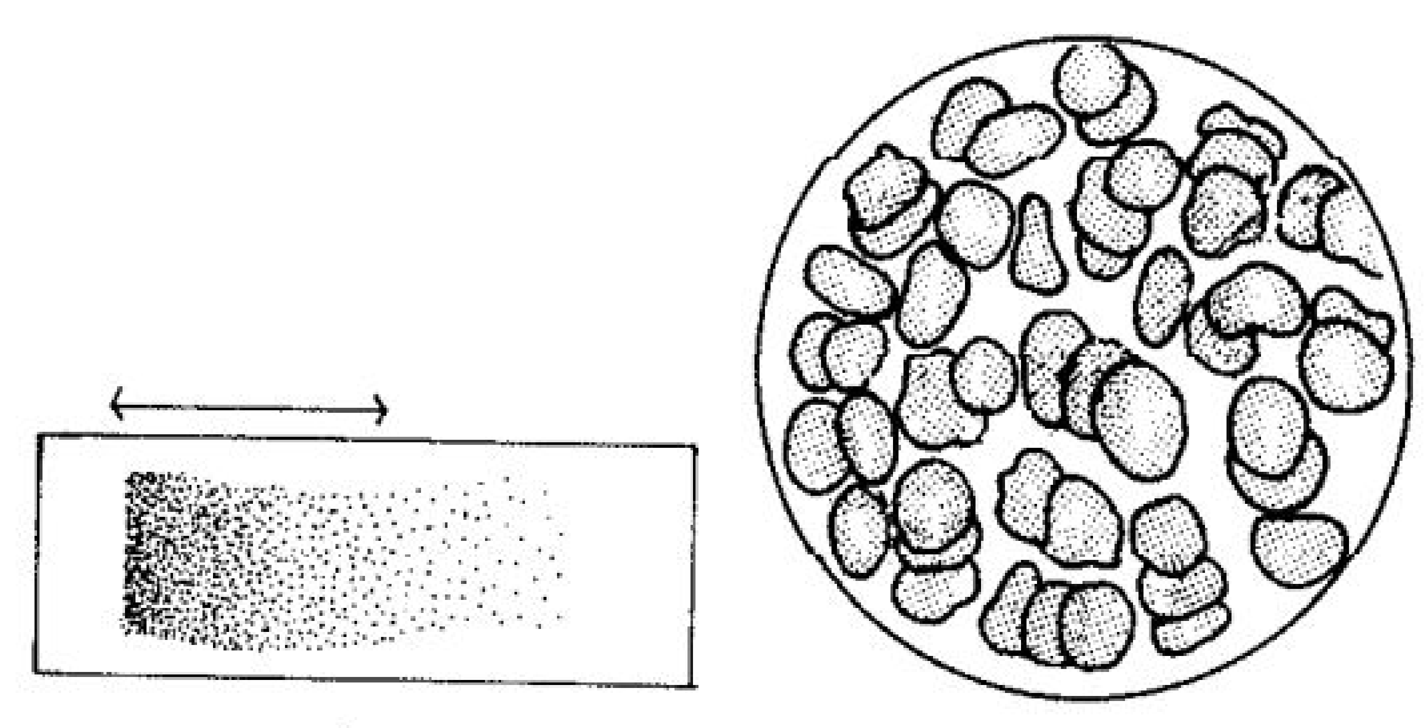
في بعض الأمراض، خاصة فقر الدم، تبدو الكريات الحمر شاذة من ناحية الشكل أو الحجم أو اللون. ولتحري الكريات الحمر الشاذة ينظر إلى الخلايا قبيل النهاية الرقيقة للفلم، فهنالك تنتشر الكريات ملامسة إحداهما الأخرى، إلا أنها غير متراكبة (الشكل 74.9). ويجب عدم النظر إلى النهاية السميكة حيث الخلايا متكدسة (الشكل 75.9)، أو النهاية الرقيقة حيث لايوجد عدد كاف من الخلايا (الشكل 76.9). إن الأنواع المختلفة للكريات الحمر الشاذة موصوفة لاحقاً.

الجدول 10.9. مظهر الخلايا الدموية في الأفلام الرقيقة الملونة بملون ليشمان.

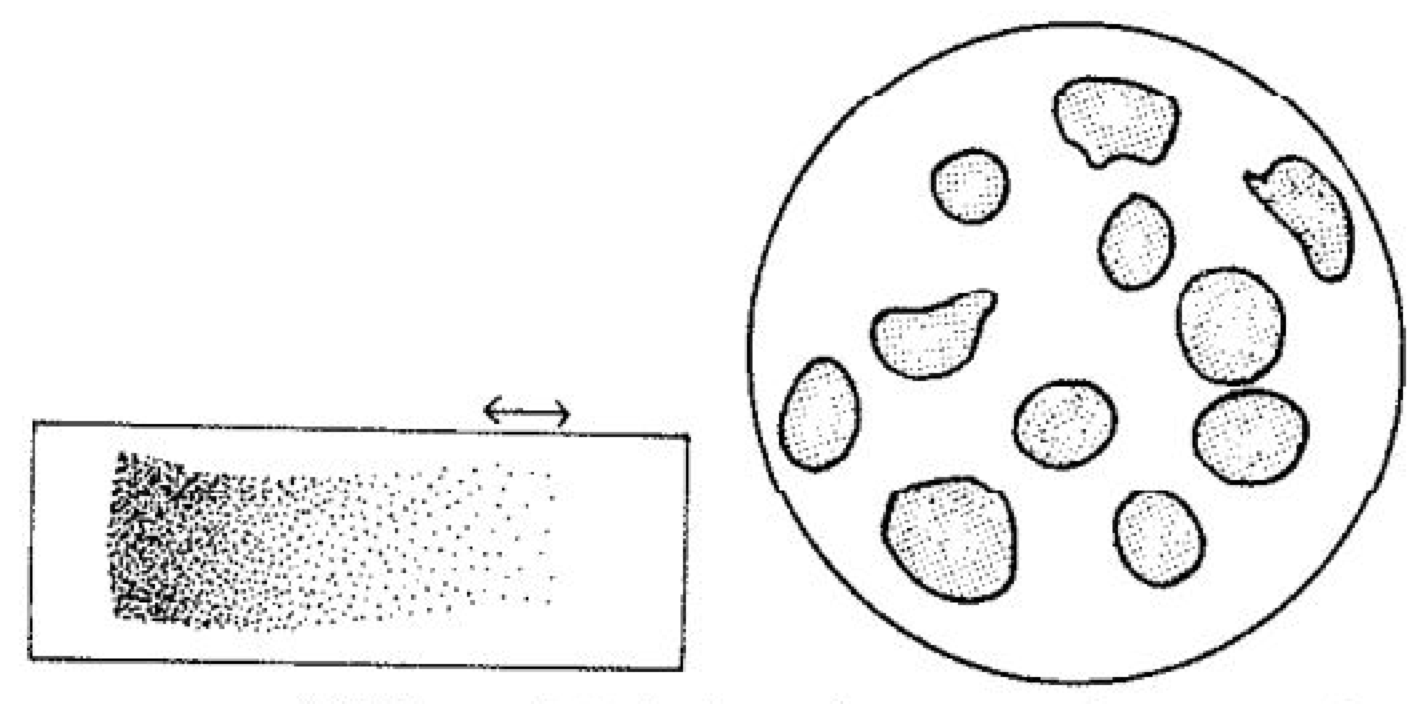
نمط الخلية	المظهر
العدلات	تتلون الهيولى بلون زهري باهت وتحتوي على حبيبات صغيرة بلون موف (بنفسجي فاتح)
اليوزينيات	تتلون الهيولى بلون زهري باهت وتحتوي على حبيبات كبيرة حمراء
القعدات	تحتوي الهيولى على حبيبات عديدة بلون موف ـ الأزرق القاتم
الوحيدات	تتلون الهيولى باللون الرمادي–الأزرق
اللمفاويات	
الكبيرة	تتلون الهيولى باللون الأزرق الصافي
الصغيرة	تتلون الهيولى باللون الأزرق القاتم
الكريات الحمر	تتلون باللون الزهري ـ الأحمر
الصفيحات	تتلون بلون موف ـ زهري



الشكل 74.9. فحص أفلام الدم لتحري الكريات الحمر الشاذة: أين يجب النظر.



الشكل 75.9. فحص أفلام الدم لتحري الكريات الحمر الشاذة. الخلايا شديدة التكدس.



الشكل 76.9. فحص أفلام الدم لتحري الكريات الحمر الشاذة: لا يوجد خلايا كافية.

الكريات الحمر السوية (الشكل 77.9)

الحجم: 6–8 مكم.

الشكل: مدورة قرصية، وأحياناً مع شيء من عدم الانتظام.

الهيولى: المحيط زهري قاتم والمركز زهري شاحب أو يكاد يكون عديم اللون.

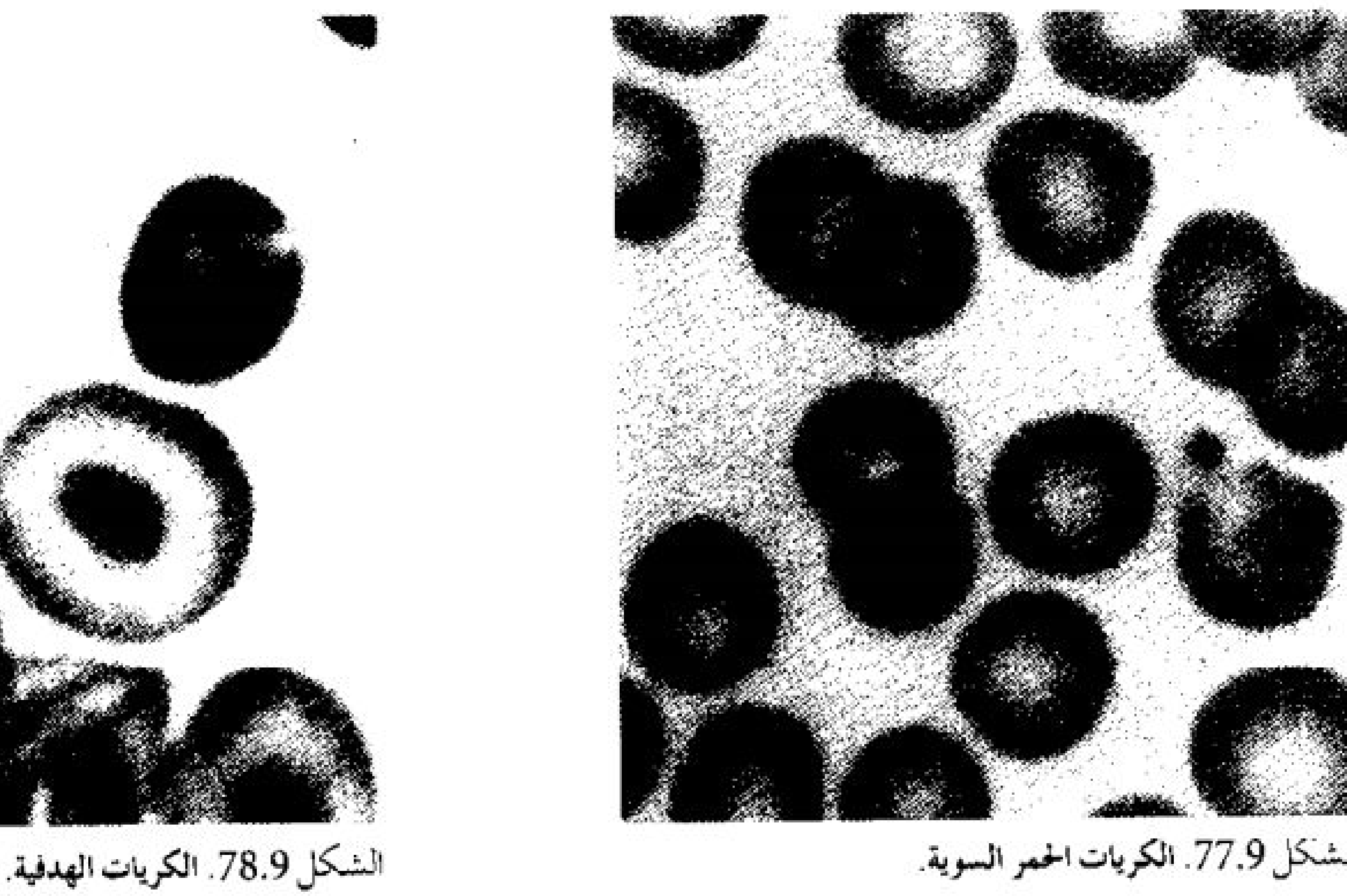
الكريات الهدفية (الشكل 78.9)

الحجم: 6–8 مكم.

الشكل: مدورة أو غير منتظمة قليلاً.

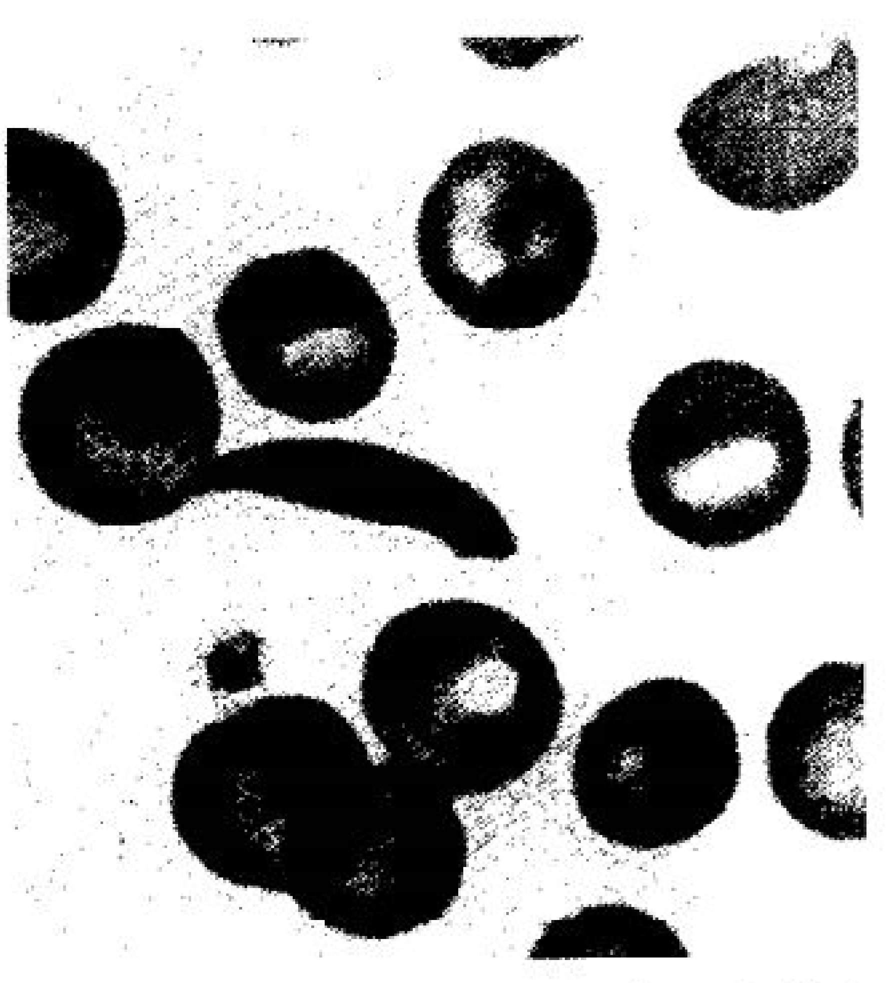
الهيولى: المركز والمحيط متلونان جيداً ولكن توجد بينهما حلقة عديمة اللون.

ترى في الثلاسيمية وعوز فيتامين B6 وفقر الدم المنجلي وأنواع فقر الدم الأخرى الناجمة عن الهيموغلوبينات الشاذة والأمراض الكبدية وكذلك في فقر الدم بعوز الحديد.

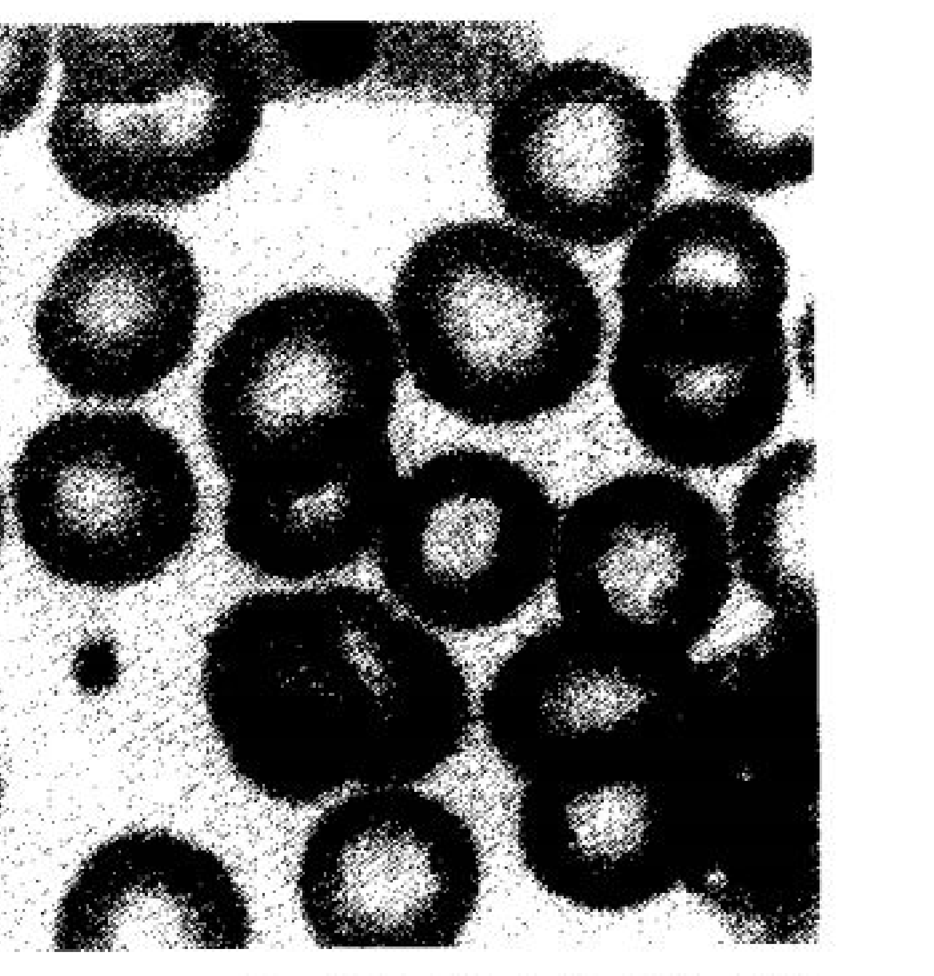


الشكل 77.9. الكريات الحمر السوية.

الشكل 78.9. الكريات الهدفية.



الشكل 79.9. الكريات المنجلية.



الشكل 80.9. الكريات المكروية (الصغيرة)..

الكريات المنجلية (الشكل 79.9)

الشكل: مُتَطاوِلَة وضَيِّقَة، ويغلب أن تكون إحدى نهايَتَيْها أو كلتاهما منحنِيَتَيْن ومُؤَنَّفَتَيْن.

تُشاهد في فقر الدم المنجلي وفي الثلاسيمية المنجلية مع الكريات الحمر المُنَوّاة والكريات الهدفية وغالباً مع كريات كِبْرَوِيَّة.

إن فحص الكريات المنجلية في المحضرات الرطبة موصوف في الفقرة 4.11.9.

الكريات المِكْرَوِيَّة (الصغيرة) (الشكل 80.9)

الحجم: صغيرة (حوالي 5 مكم).

تُشاهد غالباً في فقر الدم بعوز الحديد وفقر الدم بالأرومات الحديدية والثلاسيمية. يجب أن تُميز من الكريات الحمر المُكَوَّرَة (انظر أدناه).

الكريات الكِبْرَوِيَّة (الشكل 81.9)

الحجم: كبيرة (9–10 مكم).

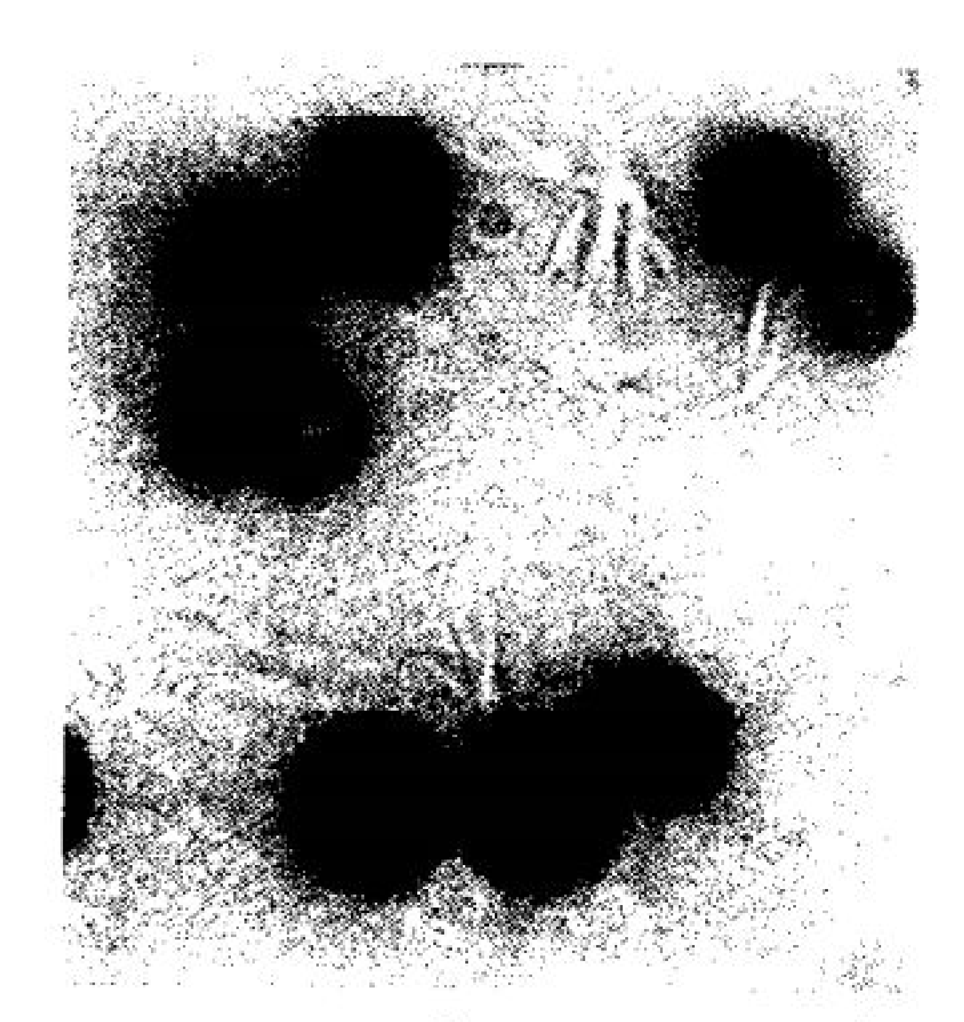
تُشاهد في أنواع فقر الدم الكبير الكريات الناجمة عن عوز حمض الفوليك أو الفيتامين B12 وفي بعض أمراض الكبد. يجب أن تميز من الشبكيات (انظر أدناه).



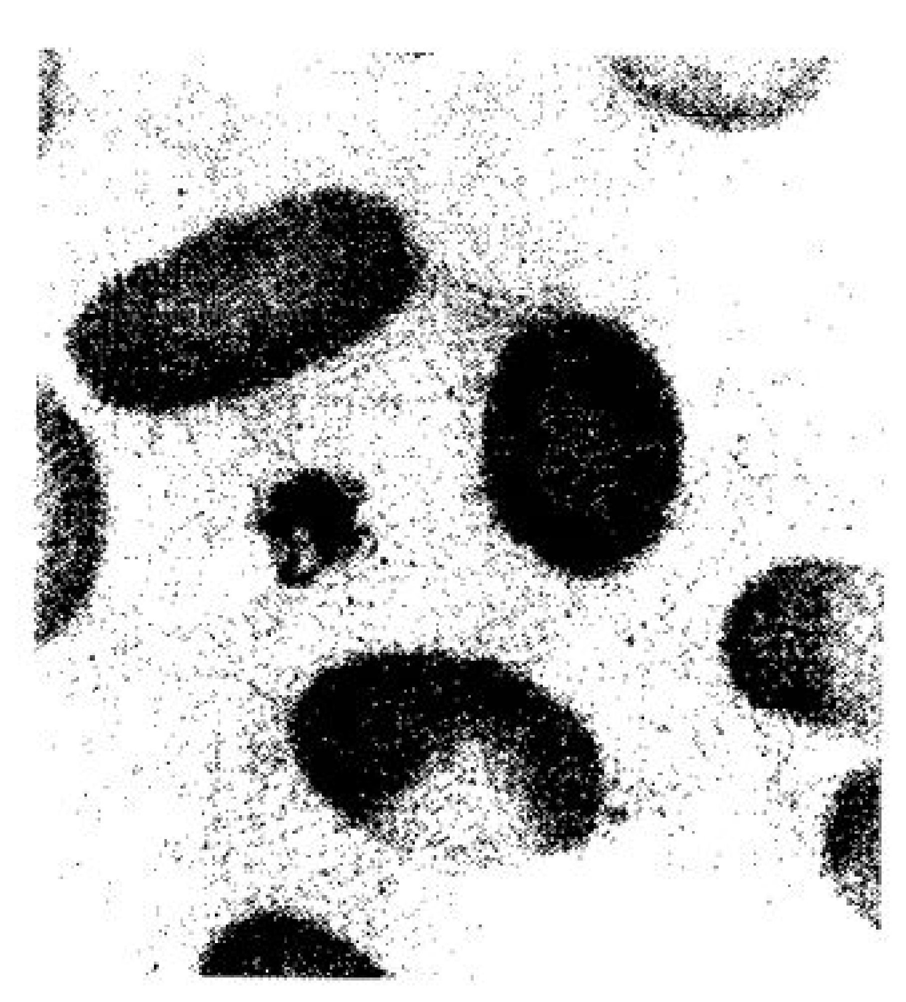
الشكل 81.9. الكريات الكبروية.



الشكل 82.9. الفصيمات الكروية.



الشكل 83.9. الكريات الحمراء المكورة.



الشكل 84.9. الكريات الإهليلجية.

الخلايا الخوذية (الفصيمات الخلوية)(الشكل 82.9)

الحجم: طبيعي أو أصغر قليلاً من الحمر السوية

خلايا مجزأة

ترى في فقر الدم الإنحلالي وفقر الدم المنجلي والثلاسيمية

الكريات الحمر المُكَوَّرَة(الشكل 83.9)

الحجم: صغيرة (6 ـ 7 مكم).

الشكل: مدورة تماماً.

الهيولى: أكثر قتامةً من الكريات الحمر السوية.

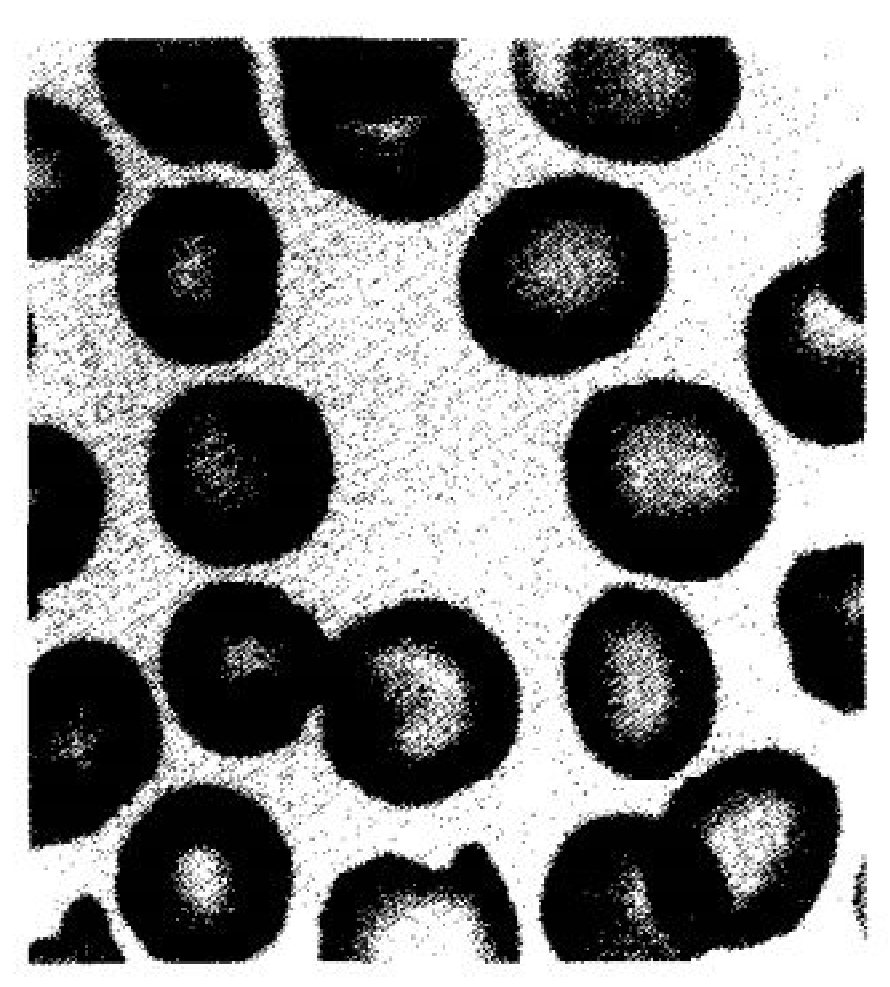
تُشاهد في أنواع فقر الدم الانحلالي وداء الكريات المدورة الوراثي.

الكريات الإهليلجيّة(الشكل 84.9)

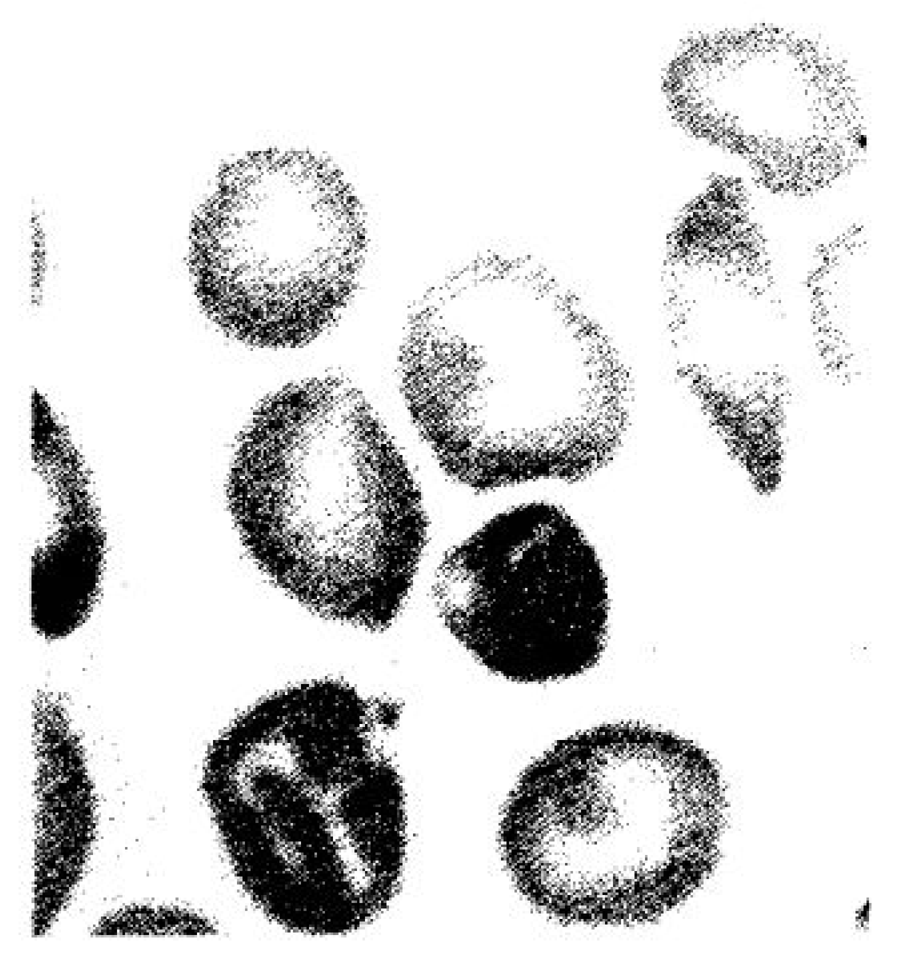
الحجم: سوية الحجم (8 مكم).

الشكل: بيضاوي.

الهيولى: أقتم تلوناً في المحيط (وخصوصاً في القطبين).



الشكل 85.9. تفاوت حجوم الكريات.



الشكل 86.9. تبكل الكريات (اختلاف أشكال الكريات).

قلما تُشاهد، وهي توجد في كثرة الكريات الإهليلجية elliptocytosis الوراثي.

تفاوُت الكريات anisocytosis (الشكل 85.9)

حالة تكون فيها كرياتٌ حمر ذات أحجام مختلفة موجودةً في الدم، مثلاً: كريات حمر قياسها 9 مكم مع كريات حمر صغيرة قياسها 6 مكم.

وتُشاهد في كثير من أنماط فقر الدم.

الكريات البكِيلَة poikilocytes (الشكل 86.9)

كريات حمر مختلفة الأشكال موجودة في نفس الدم، مثلاً: مزيج من كريات مدورة وبيضاوية ومثلثية وكُمثْرِيّة ومُسَنَّنة.

تُشاهد في كثير من أنماط فقر الدم وتليف النقي.

الكريات الحمر المحتوية على أجسام هاوِل ـ جولي (الشكل 87.9)

كريات حمر تحتوي على حبيبة واحدة كبيرة أرجوانية أو أكثر (بُقاوَة remnant نووية).

يجب عدم الخلط بينها وبين الصفيحات المستقرة على الكريات الحمر.

ترى في فقر الدم الإنحلالي وفقر الدم كبير الكريات وبعد استئصال الطحال.

الكريات الحمر المحتوية على حلقات كابوت (الشكل 88.9)

هي كريات حمر تحتوي على بِنىً بشكل الحلقة أو بشكل الرقم ثمانية 8 ، وتتلون بالأحمر بملون رايت.

تُشاهد في فقر الدم الشديد.

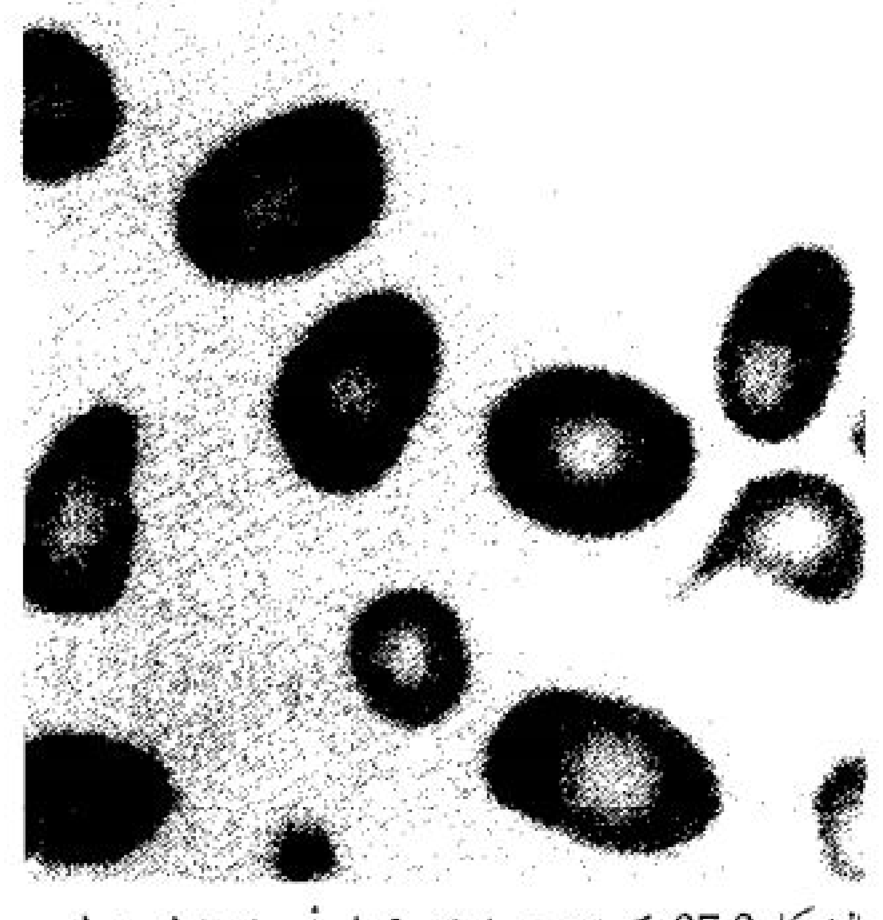
يجب عدم الخلط بينها وبين طفيليات الملاريا (البَرَداء).

الكريات الحمر المحتوية على حبيبات قَعِدَة (الشكل 89.9)

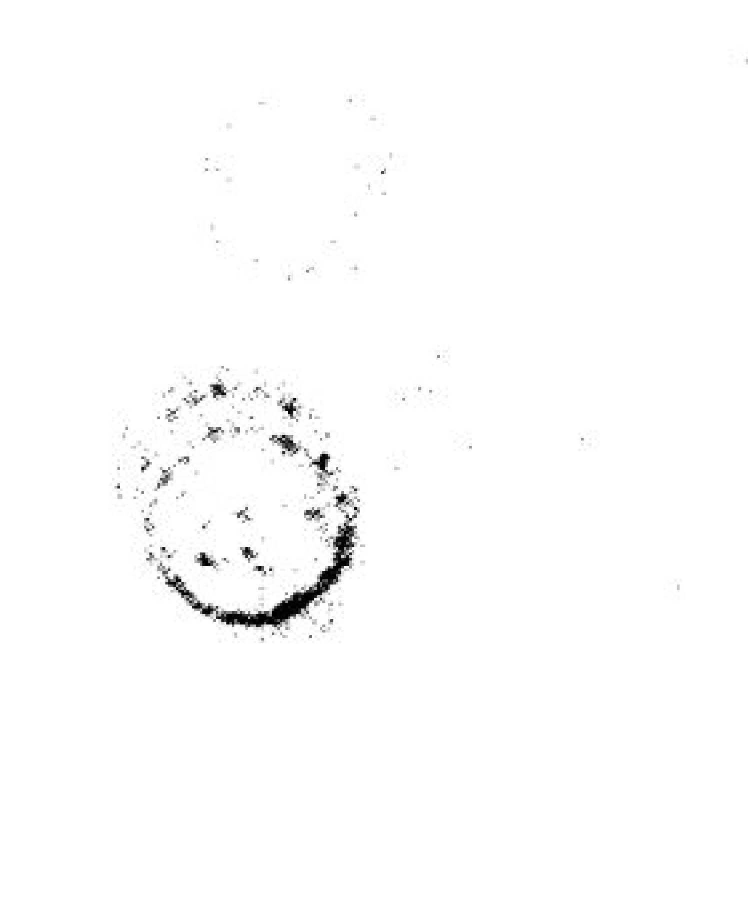
هي كريات حمر تحتوي على عدة حبيبات زرقاء– سوداء في الهيولى.

يجب عدم الخلط بينها وبين رواسب الملون.

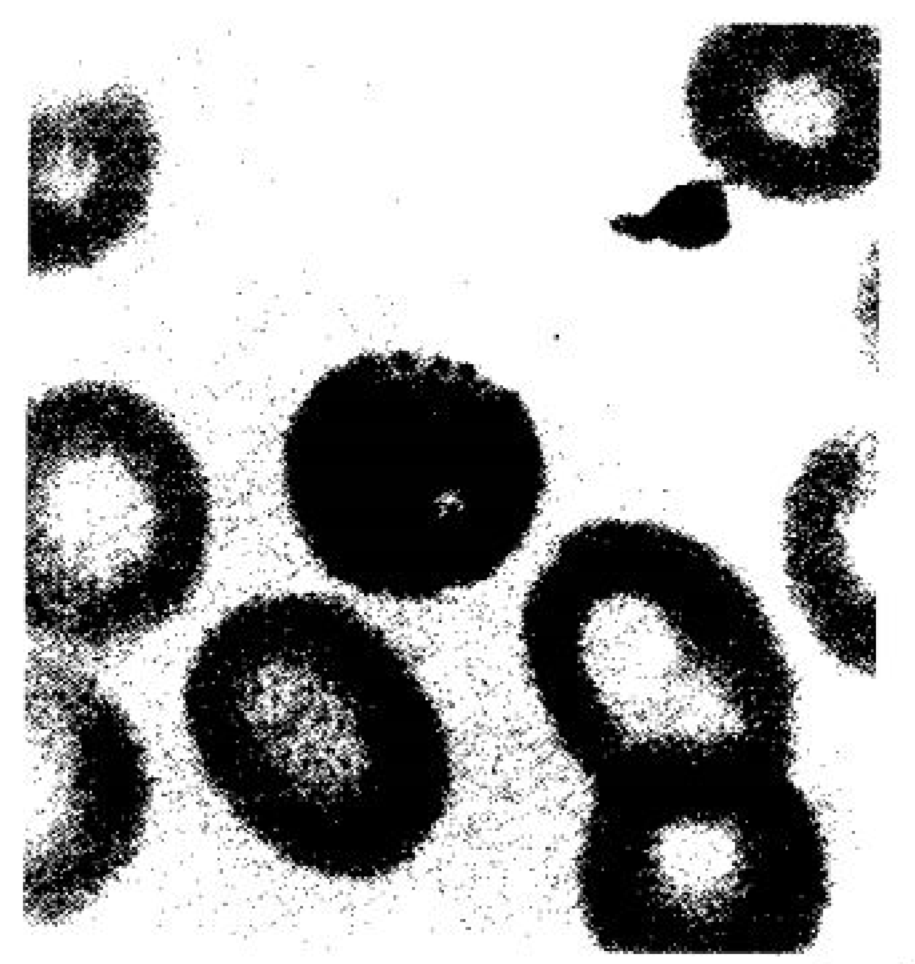
تشاهد في عوز الفتيامين والثلاسيمية والانسمام بالرصاص.



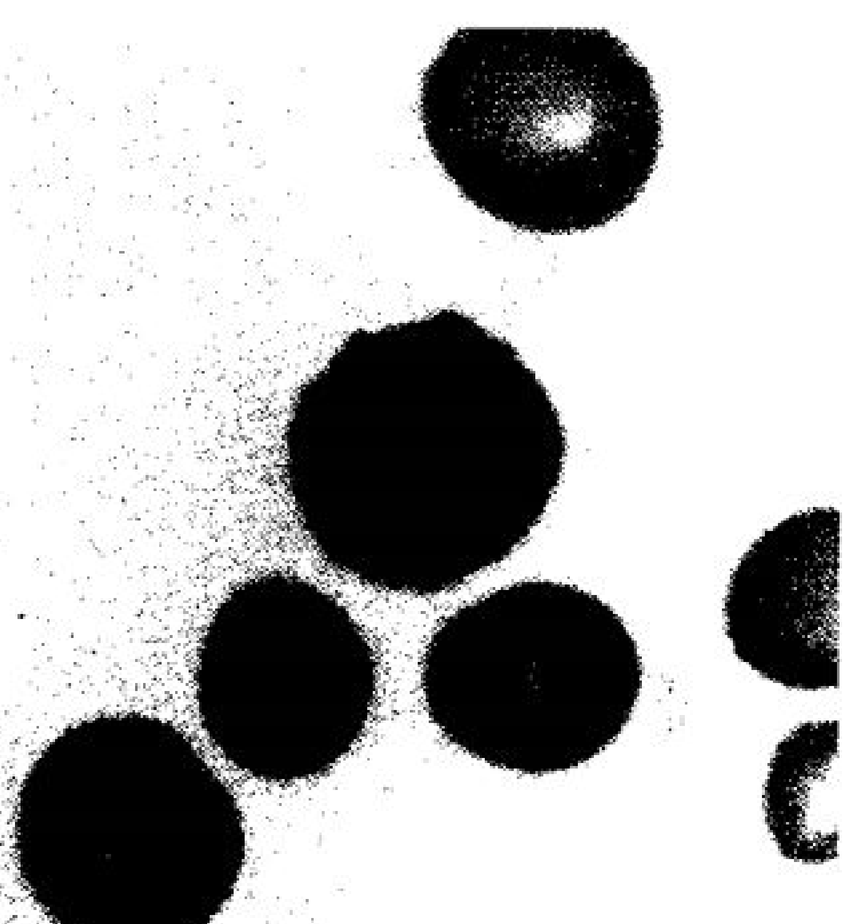
الشكل 87.9. كريات حمراء محتوية على أجسام هاول–جولي.



الشكل 88.9. كريات حمراء محتوية على حلقات كابوت.



الشكل 89.9. كريات حمراء محتوية على حبيبات قعدة.



الشكل 90.9. الأرومات الحمر السوية.

الكريات الحمر المُنَوَّاة (الأرومات السوية) (الشكل 90.9)

الحجم: 8–10 مكم.

الشكل: مدورة أو غير منتظمة.

النواة: مدورة وغالباً بعيدة عن المركز وذات كروماتين كثيف أرجواني قاتم.

الهيولى: زهرية اللون أو رمادية مُزْرَقَّة.

تشاهد في الأنواع الشديدة من فقر الدم مع سرعة تولد الكريات الحمر مثل: فقر الدم المنجلي، وفي العداوى الجرثومية الشديدة، وفي ابيضاضات الدم والسرطانات.

الكريات الشبكية (الشكل 91.9)

الكريات الشبكية هي كريات حمر تحوي على حبيبات ناعمة بنفسجية قاتمة (بقايا نووية) تتلون بملونات حياتية مثل: زرقة الكريزيل وأزرق إيفان. تختفي الشبكيات عادة خلال أربع ساعات من خروجها إلى الدم.

الشكل 91.9. الخلايا الشبكية.

الكريات البيض

على عكس الكريات الحمر، تحوي الكريات البيض نواة قد تكون مختلفة الحجم والشكل. وكما ذكر، هناك خمس أنواع رئيسة من الكريات البيض هي : العدلات واليوزينيات والقاعدات واللمفاويات ووحيدات النوى.

إن نسب كل نوع منها يعرف بالكسر العددي للكريات البيض وهو ذو أهمية تشخيصية.



الكريات المُفَصَّصة النوى (العَدِلات، واليوزينيات، والقَعِدات)

لكل من الكريات المفصصة النوى:

– نواه ذات عده فصوص؛

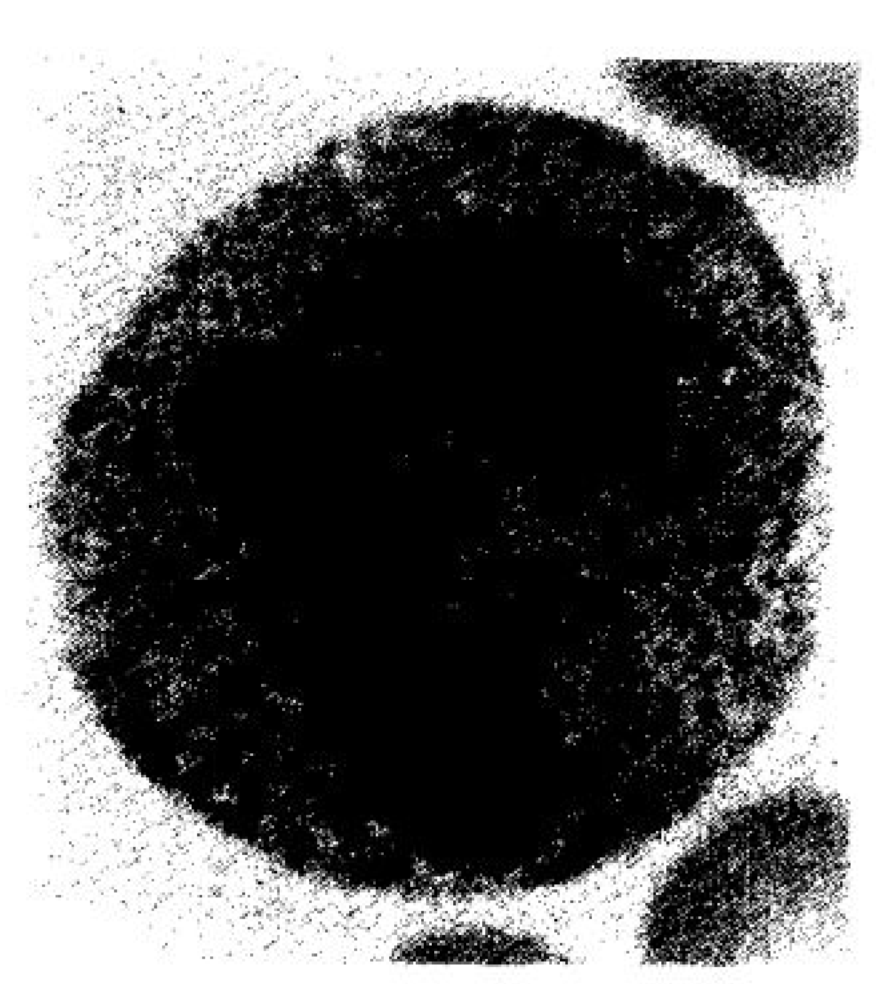
– حبيبات في الهيولى (ومن هنا جاءت تسميتها المألوفة: المُحَبَّبات).



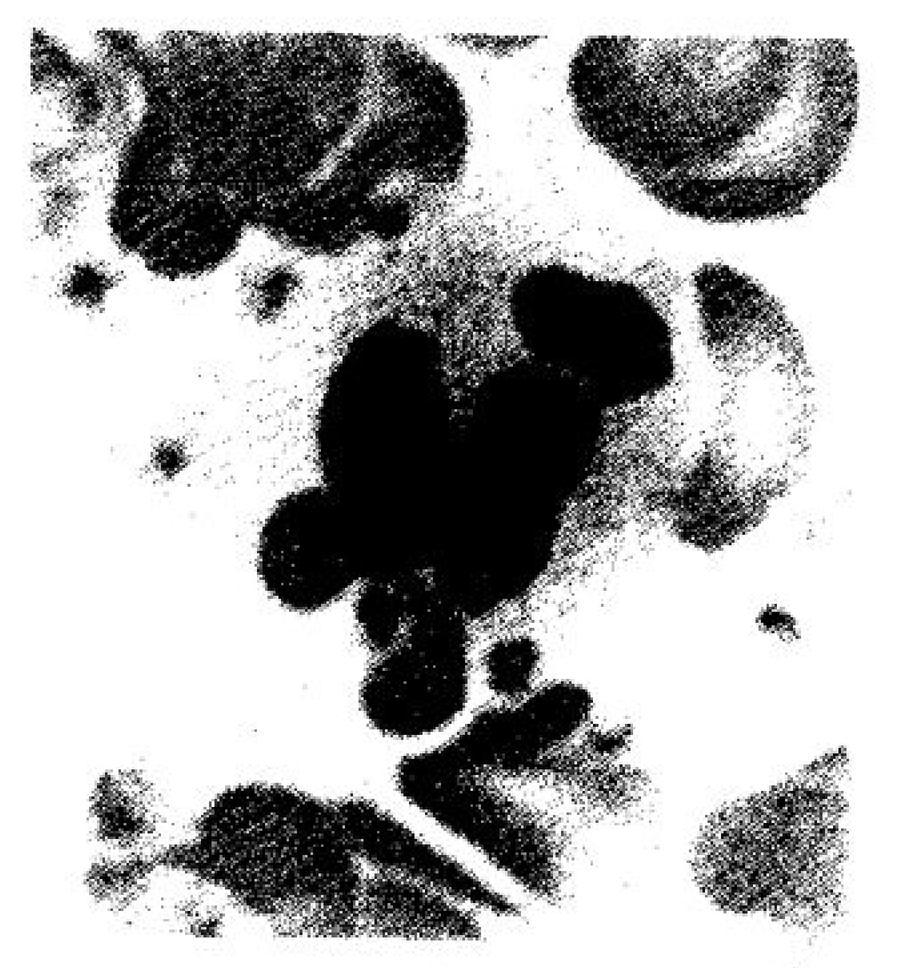
الكريات المفصصة النوى العَدِلة (الشكل 92.9)

الحجم: 12–15 مكم.

الشكل: مُدَوَّرَة مُحَدَّدَة جيداً.



الشكل 92.9. كثيرات النوى العدلة.



الشكل 93.9. كثيرات النوى اليوزينية.

النواة: مفصصة إلى عدة فصوص (2–5) متصلة بخيوط من الكروماتين، ويبدو الكروماتين بشكل كتلة متناسقة أرجوانية قاتمة.

الهيولى: وافرة زهرية تحتوي على حبيبات عديدة صغيرة جداً بلون الموف (بنفسجي فاتح). وتبدو الحبيبات بلون بنفسجي بني بعد التلوين.

الكريات المفصصة النوى اليوزينية (الشكل 93.9)

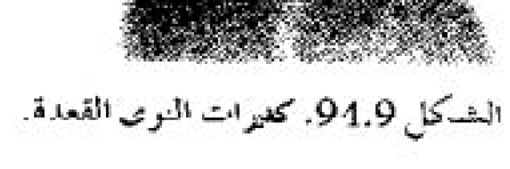
الحجم: 12–15 مكم.

النواة: ذات فصين اثنين عادةً.

الهيولى: يُرى منها القليل جداً، وتحتوي على حبيبات كثيرة كبيرة ومحتشدة بكثافة ومدورة برتقالية حمراء.

تبدو هذه الكريات أحياناً مُخَرَّبَة وقد تبعثرت حبيباتها.





الشكل 94.9. كثيرات النوى القعدة.

الكريات المفصصة النوى القَعِدة (الشكل 94.9)

هذه أندر أنماط المحببات.

الحجم: 11–13 مكم.

الشكل: مدورة.

النواة: يصعب أن تُرى لأنها تكون مغطاة بالحبيبات.

الهيولى: يُرى منها القليل جداً، وتحتوي على حبيبات كثيرة كبيرة جداً مدورة وأرجوانية قاتمة محتشدة بشكل أقل كثافةً من حبيبات اليوزينيات. توجد أحياناً فجوات صغيرة عديمة اللون.



اللمفاويات والوحيدات

لكل لمفاوية أو وحيدة نواةٌ مكتنزة، ويمكن أن تحتوي على حبيبات في الهيولى أو تكون خالية منها.

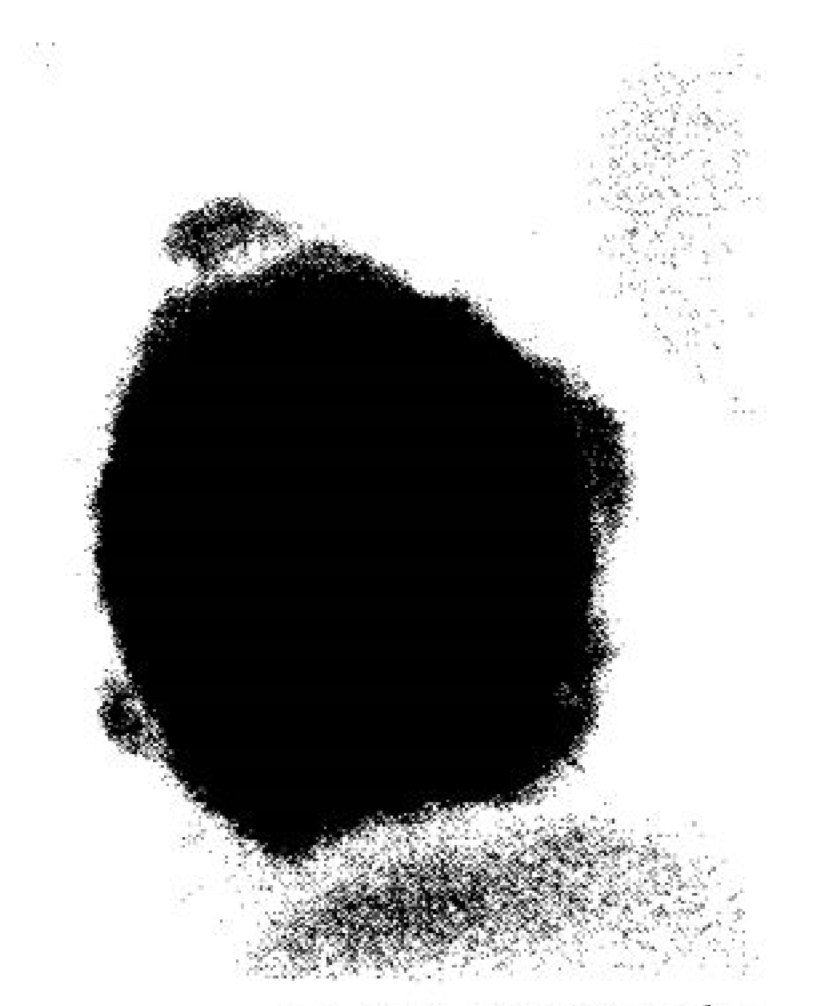
اللمفاويات الصغيرة (الشكل 95.9)

الحجم: 7–10 مكم.

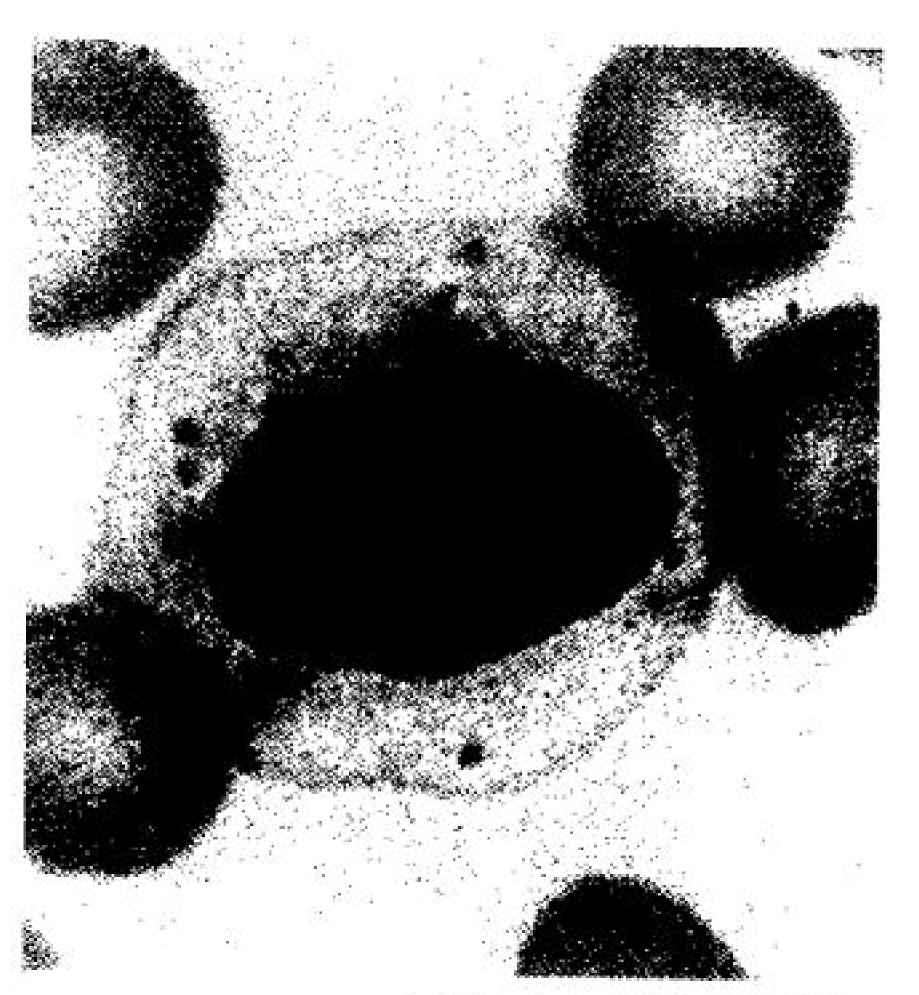
الشكل: مدورة.

النواة: كبيرة (تشغل معظم الكرية)، ويكون الكروماتين أرجوانياً قاتماً محتشداً بكثافة.

الهيولى: لا يُرى منها إلا قليل، وتكون زرقاء خالية من الحبيبات.



الشكل 95.9. اللمفاويات الصغيرة.



الشكل 96.9. اللمفاويات الكبيرة.

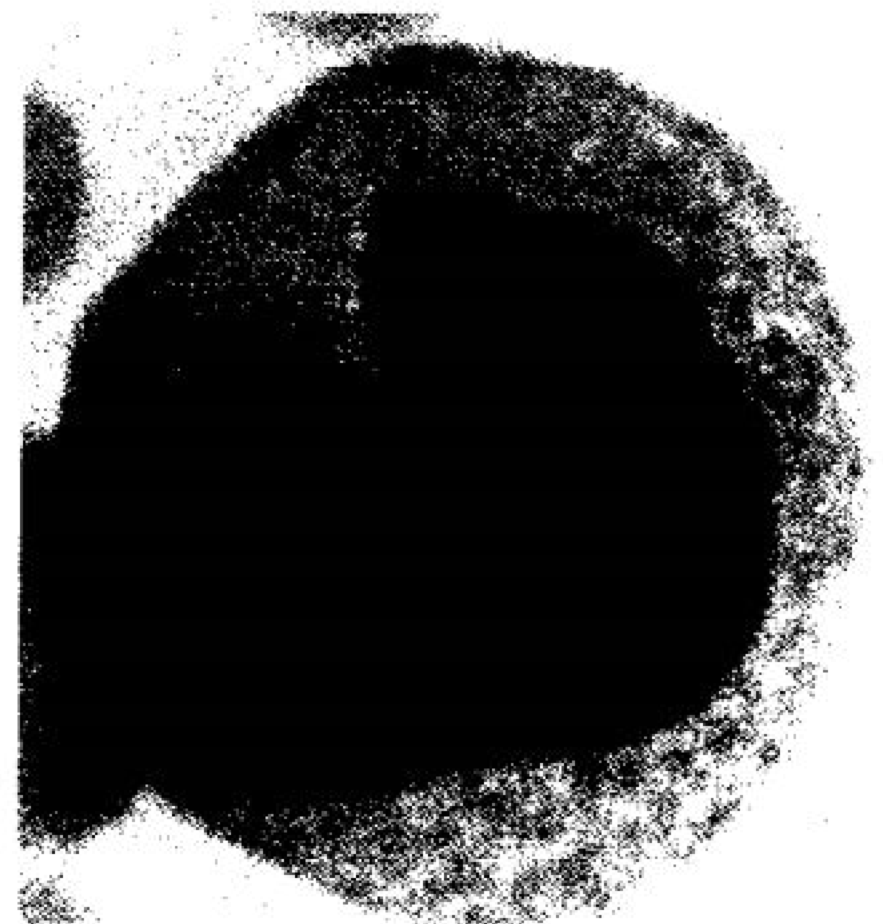
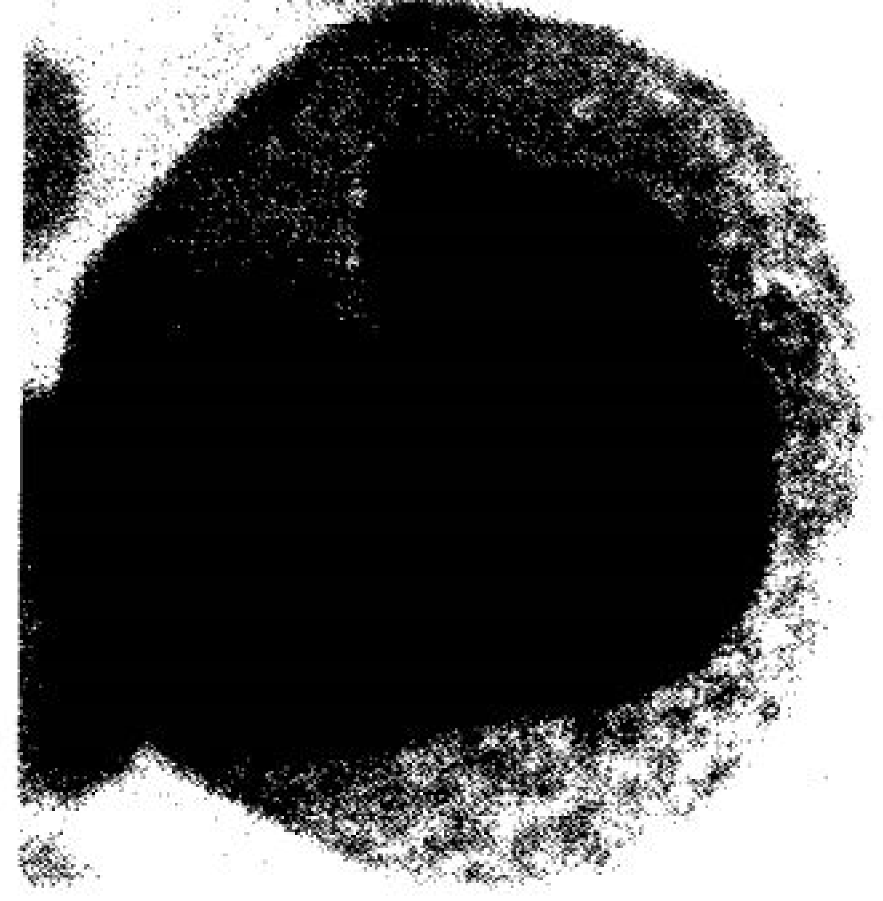
اللمفاويات الكبيرة (الشكل 96.9)

الحجم: 10–15 مكم

الشكل: مدورة أو غير منتظمة.

النواة: بيضاوية أو مدورة، وقد تستقر في جانب من جوانب الكرية.

الهيولى: وافرة، زرقاء شاحبة تحتوي على بضعة حبيبات كبيرة حمراء قاتمة.

الشكل 97.9. وحيدات النوى.

الوحيدات (الشكل 97.9)

الحجم: 15–25 مكم (أكبر الكريات البيض حجماً).

الشكل: غير منتظم.

النواة: مختلفة الشكل، ويغلب أن تكون بشكل الكلية أو حبة الفاصولياء، ويكون الكروماتين بلون الموف (بنفسجي فاتح) مُنْتَظِماً بشكل شبكة من الخيوط.

الهيولى: زرقاء شاحبة تحتوي على حبيبات ناعمة تشبه الغبار ومحمرة عادةً. توجد فجوات في الهيولى عادةً.

في المرضى المصابين بالملاريا (البُرَداء) تحتوي الهيولى غالباً على كتل سوداء–بنية، وهذه هي الأصبغة الملارية.

الكريات النادرة أو الشاذة

الخلية البلازمية (الشكل 98.9)

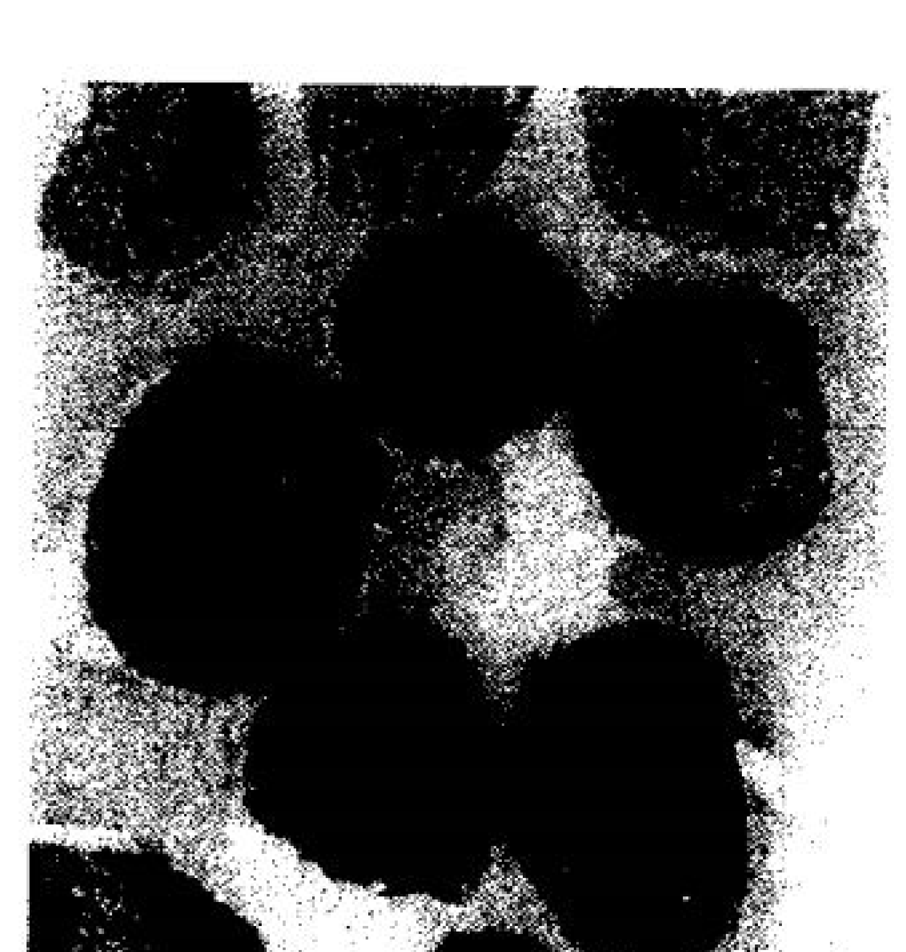
تُنتج الكرياتُ البلازميةُ الأضدادَ، ويمكن أن تُرى في أفلام الدم المُحَضَّرَة من المرضى المصابين بالحصبة، أو السل، أو عداوى فيروسية أو جرثومية أخرى، أو الورم النقيومي العديد.

الحجم: 12–15 مكم.

الشكل: مدورة أو بيضاوية.

النواة: مدورة، منزاحة عن المركز، كروماتينها محتشد بكثافة، وتبدي غالباً منظر الدولاب.

الهيولى: زرقاء قاتمة مع باحة شاحبة التلون تحيط بالنواة؛ وتوجد فجوات متعددة صغيرة جداً لا تُرى بسهولة.



الشكل 98.9. الخلايا البلازمية.

المُحَبَّبات غير الناضجة



الشكل 99.9. العدلات غير الناضجة

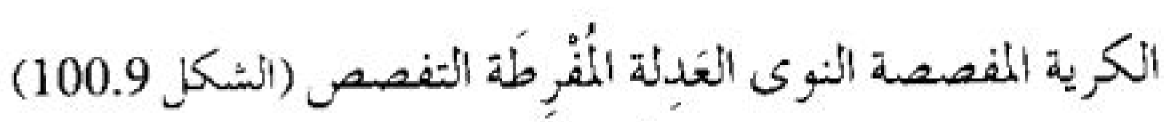
المُحَبَّبات غير الناضجة تمُرُّ من النقي إلى مجرى الدم في العداوى الجرثومية الشديدة، ويمكن تمييزها بالملامح التالية:

الحجم: 12–18 مكم.

النواة: مفردة ومن دون تفصّص، ويتراوح لون الكروماتين بين الأحمر القاتم وبين الأرجواني.

الهيولى. زرقاء شاحبة أو زهرية، ذات حبيبات كثيرة وكبيرة بلون الموف (بنفسجي فاتح) أو الأحمر القاتم. وقد ترى تَحَبُّبات سُمِّيَّة تكون فيها الحبيبات كبيرة جداً ومتلونة بلون قاتم.

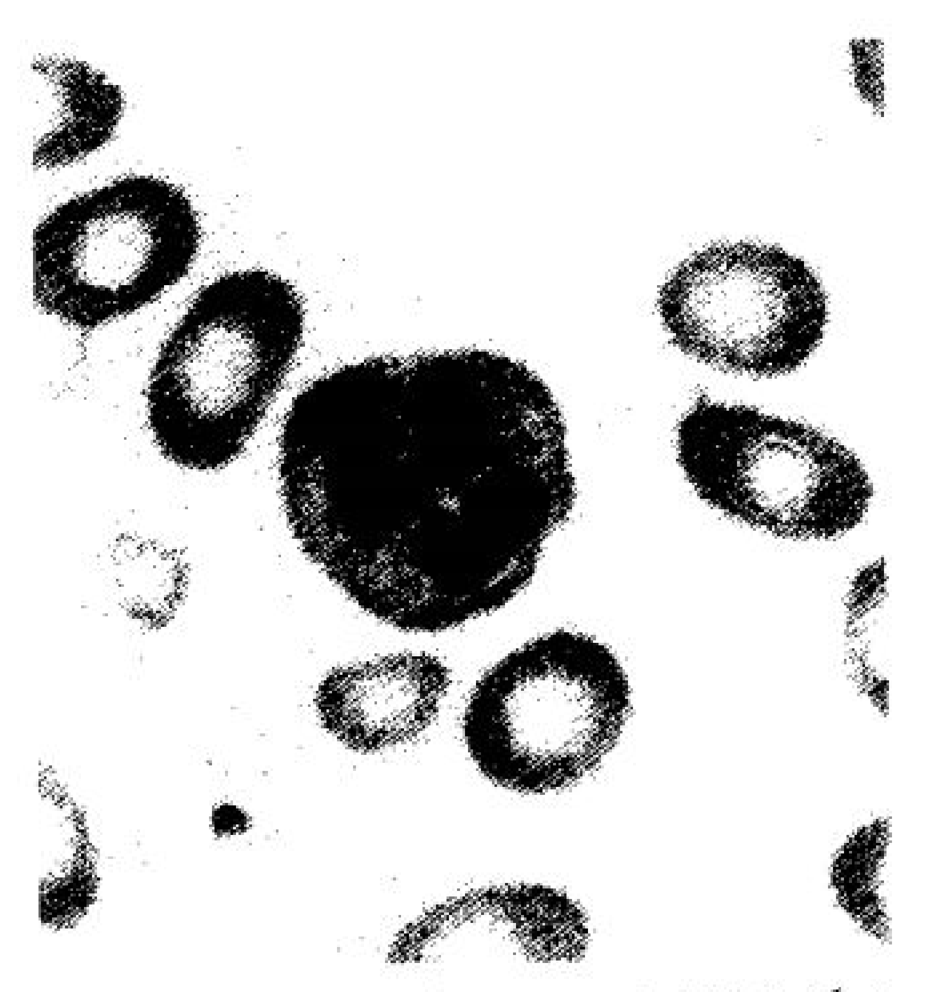
إذا شوهدت عدلات غير ناضجة (شكل شريطي) (الشكل 99.9) يكتب كسرها العددي مثلما هو للأنواع الأخرى من الكريات البيض(الشكل 102.9).



الكرية المفصصة النوى العَدِلة المُفْرِطَة التفصص (الشكل 100.9)

الكرية المفصصة النوى العَدِلة المُفْرِطَة التفصص تبدو كالعَدِلة السوية فيما عدا أن نواها تكون ذات 5–10 فصوص وأنها تكون في الغالب أكبر حجماً.

ويمكن أن ترى أمثال هذه العدلات في المرضى المصابين بفقر الدم الكبير الكريات الذي ينجم عن عوز حمض الفوليك أو الفيتامين B12.



الشكل 100.9. العدلات زائدة التفصص.

اللمفاويات اللانموذجية (الشكل 101.9)

يمكن أن تُرى اللمفاويات اللانموذجية في العداوى الفيروسية لاسيما في كَثْرَة الوحيدات العَدْوَائيَة (الحمى الغُدِّيَّة)، والشاهوق (السعال الديكي)، والحصبة؛ وهي ترى كذلك في السل والملاريا الشديدة والإيدز.

الحجم: مختلف كثيراً من 12–18 مكم.

الشكل: غير منتظم عادةً.

النواة: مدورة أو غير منتظمة، وتستقر غالباً في جانب من جوانب الخلية، ويمكن أن تُرى نُوَيَّات.

الهيولى: تكون عادةً بلون أزرق أقتم مما في اللمفاوية الكبيرة، وتُشَكِّل حافةً قاتمة للكرية؛ وهي لا تحتوي على حبيبات.

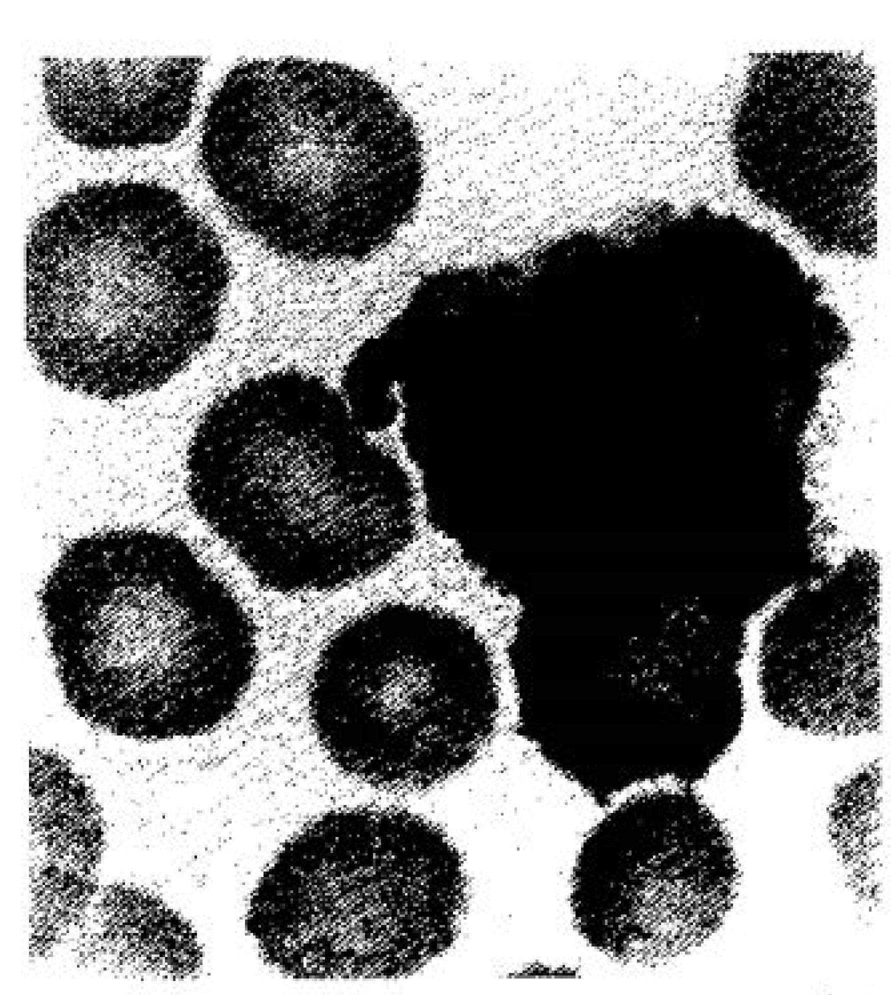
أرومات اللمفاوية(الشكل 102.9)

هذه أفْتى أنماط الكريات البيض(أقلها نضجاً)، ويمكن أن تُرى في أفلام الدم المحيطي في المرضى المصابين بابيضاض الدم (اللوكيميا).

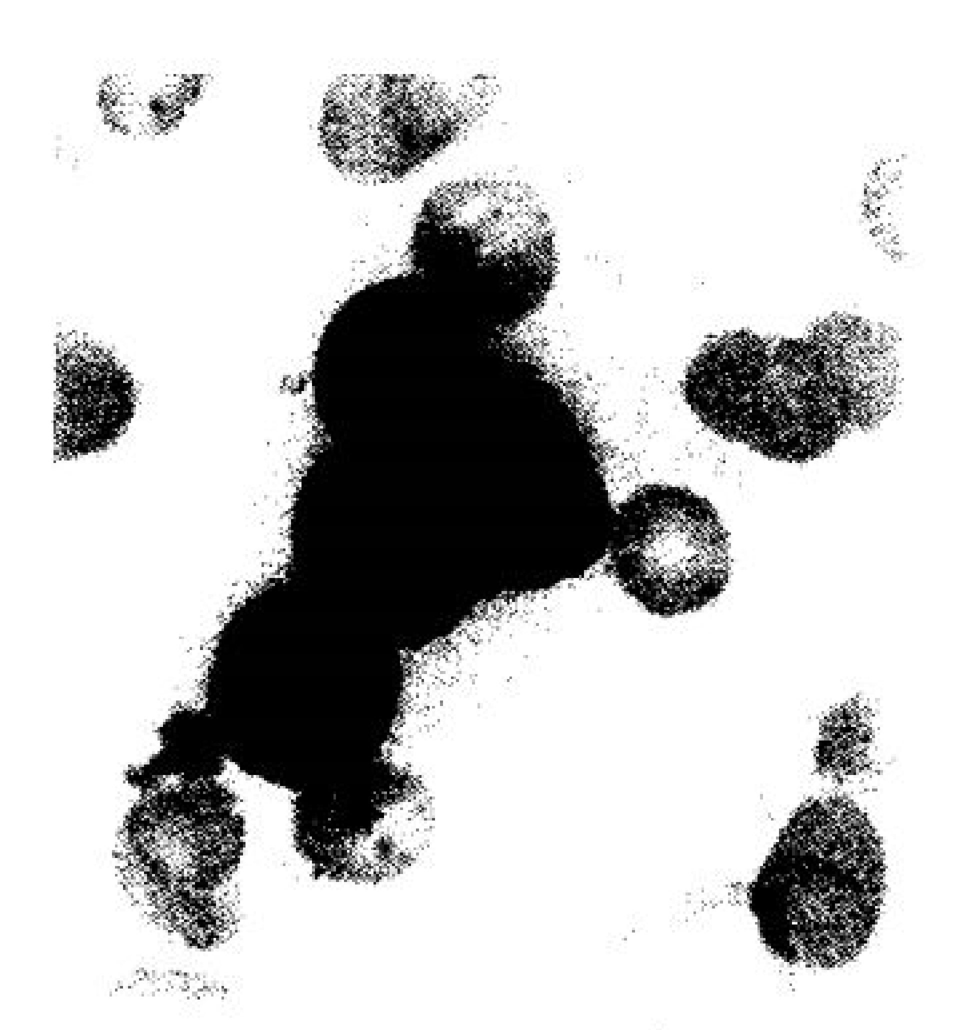
الحجم: كبيرة، 15–25 مكم.

النواة: كبيرة مدورة بلون الموف الشاحب، وتحتوي على 1–5 نويات.

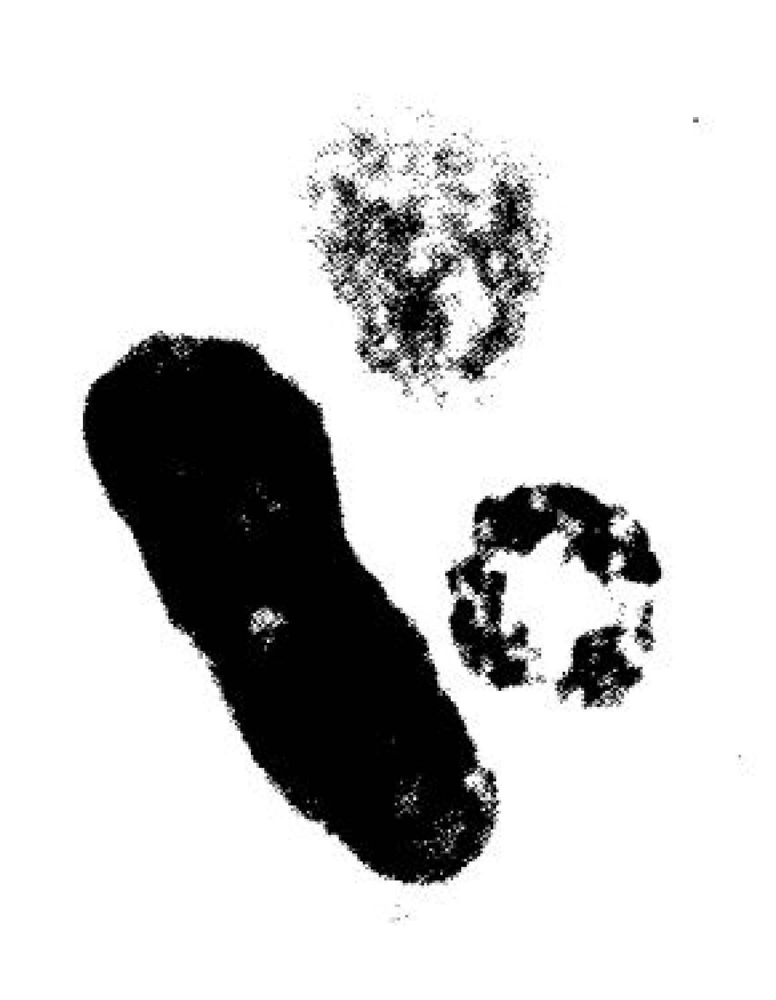
الهيولى: زرقاء قاتمة ذات باحة رائقة غير ملونة حول النواة، ولا تحتوي على حبيبات.



الشكل 101.9. لمفاويات لا نموذجية.



الشكل 102.9. أرومة لمفاوية.





الشكل 103.9. صفيحة دموية.

النَّوَّاءات (الشكل 103.9)

هي الخلية الوالِديَّة للصفيحات (الفقرة 3.1.9) وتوجد في نقي العظم.

الحجم: كبيرة جداً، 60–100 مكم.

النواة: غير منتظمه أبداً، ومفصصة فصوصاً كبيرة ولكنها كثيفة.

الهيولى: تحتوي على حبيبات كثيرة ناعمة معظمها حمراء قاتمة، وعلى صفيحات. وجدار هذه الخلية غير مُحَدَّد بوضوح.

(يندر جداً أن توجد في الدم المحيطي).

11.9 اختبار تحري فقر الدم المنجلي

الهيموغلوبين S (المنجلي) هو هيموغلوبين شاذ موروث، فإذا كان موروثاً من كلا الأبوين فإنه يسبب فقر الدم المنجلي الكريات وهو مرض خطير، وإذا كان موروثاً من أحد الأبوين فحسب فإنه يسبب ما يدعى الخَلَّة المنجلية التي لا تتجلى عادةً بالمرض؛ ويُشاهَد الهيموغلوبين S في إفريقية المدارية بصورة رئيسية ولكنه يُشاهَد كذلك في منطقة شرق البحر المتوسط وبين الأمريكيين من أصل إفريقي. إن اختبار التمنجل على الشرائح لا يميز بين فقر الدم المنجلي الكريات وبين الخَلَّة المنجلية.

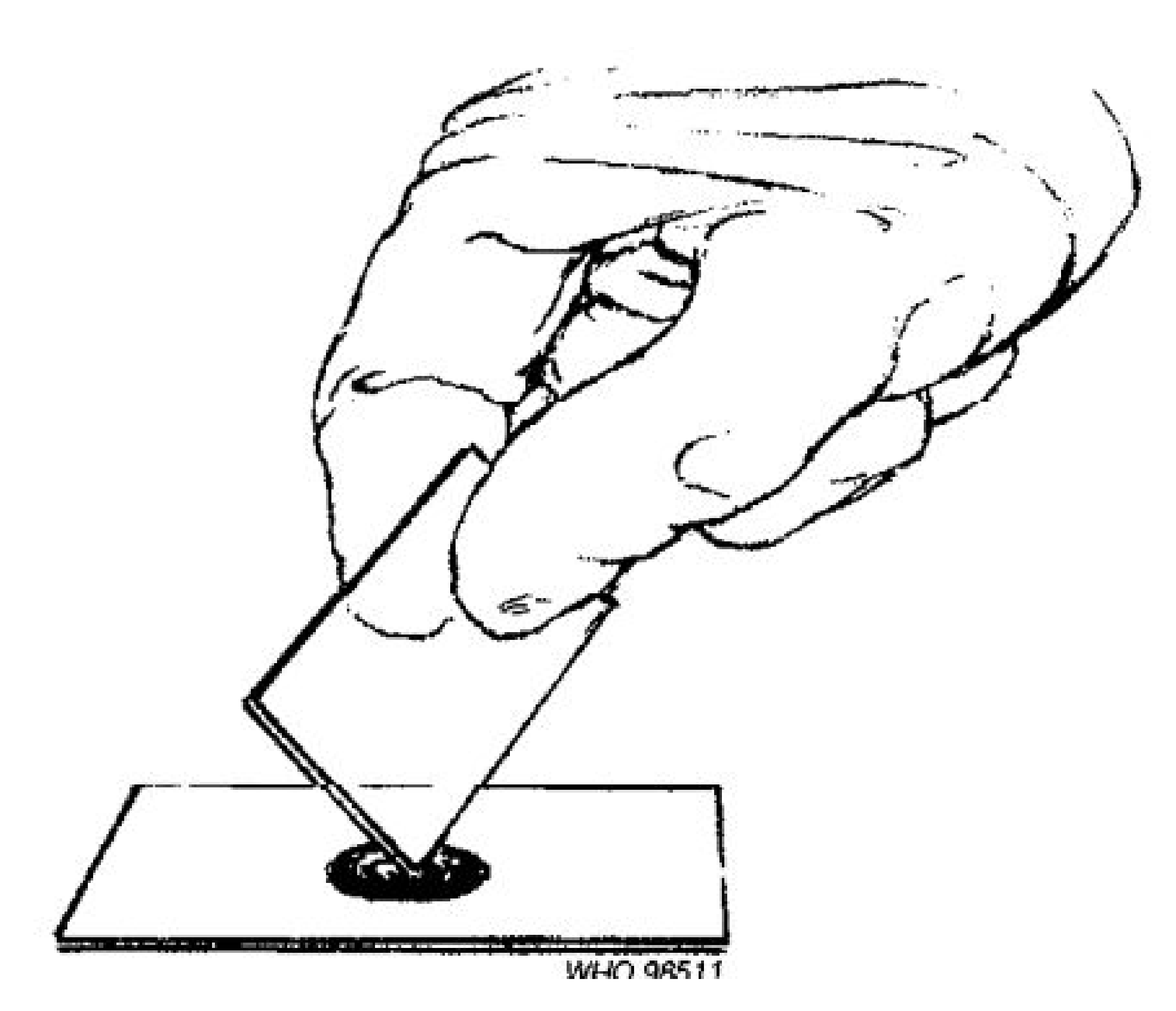
1.11.9 المبدأ

تُمزَج قطرة واحدة من الدم بقطرة واحدة من كاشف ميتابيسلفيت الصوديوم على شريحة، فإذا كانت الكريات الحمر تحتوي على الهيموغلوبين S (المنجلي) فإنها سوف تصبح بشكل المنجل أو الهلال (الشكل 79.9).

يقوم الكاشف بنزع الأكسجين من الكريات مما يسمح للتمنجل بالحدوث.

2.11.9 المواد والكواشف

- مجهر
- ساترات
- ممص باستور (أو مَمَصَّة قَطَّارَة).
- إناء لمع جفاف المُحَضَّر كأطباق بتري مثلاً.
- شرائح مجهرية
- ورق ترشيح.
- عودان خشبيان صغيران.
- محلول مائي طازج من ميتابيسلفيت الصوديوم 2% (الكاشف رقم 55).

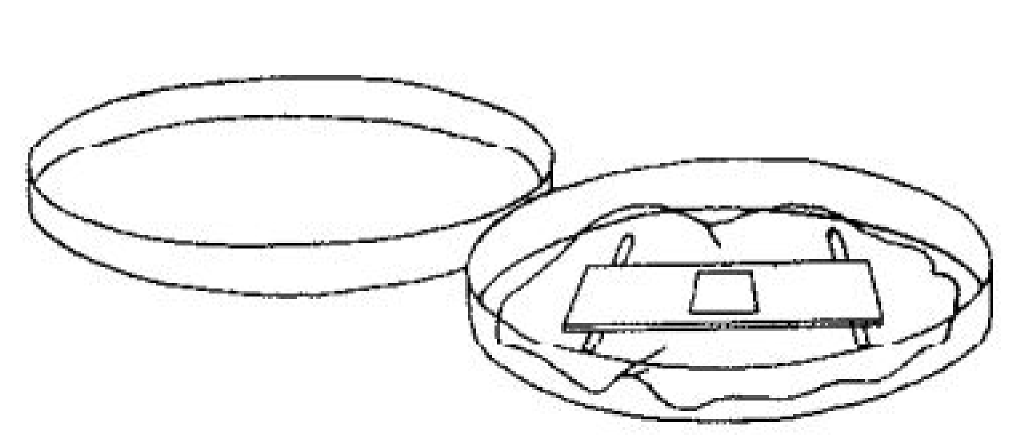


الشكل 104.9. مزج الدم وميتابيسلفيت الصوديوم بواسطة شريحة.

3.11.9 الطريقة

1. توضع قطرة صغيرة من الدم الشُّعَيْري (بقطر حوالي 4 مم) في مركز شريحة (الشكل 65.9).
2. تُضاف قطرة مساوية بالحجم من محلول ميتابيسلفيت الصوديوم.
3. تُمزج القطرتان بعناية بزاوية شريحة (الشكل 104.9)، ثم تُسْتَران ساترة، مع التأكد من عدم تشكل فقاقيع هوائية.
4. توضع الشريحة في علبة بتري مُحْتَويَة في قاعها على ورقة ترشيح مُبَلَّلَة. وتُحْمَل الشريحة على عودين خشبيين (الشكل 105.9). يُنْتَظر 30 دقيقة، ثم تُفحص بالمجهر

ملاحظة: عدم استعمال كاشف مُخْتَزِل كميتابيسلفيت الصوديوم لاداعي لخَتْم المحضر.



الشكل 105.9. حضن الشريحة في طبق بتري.

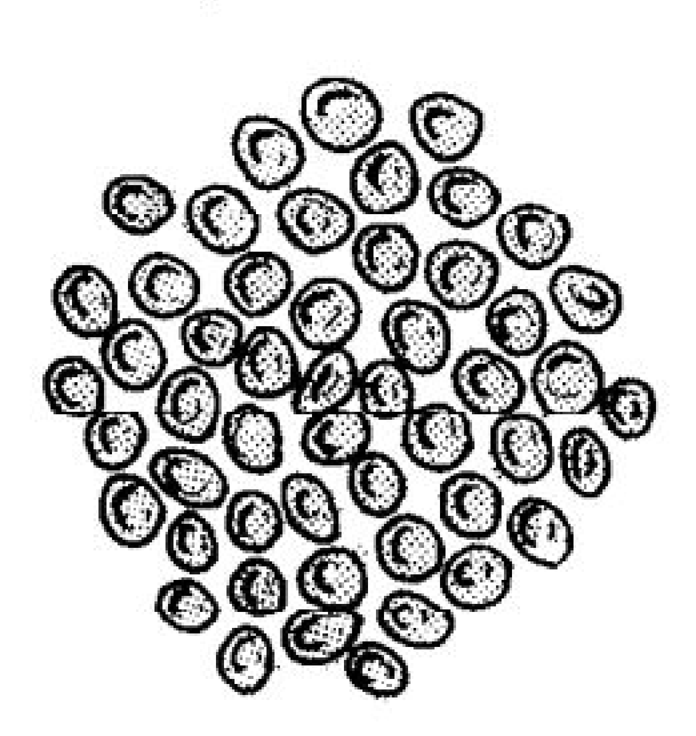
4.11.9 الفحص المجهري

تفحص الشريحة تحت المجهر باستعمال الشيئية 40×.

النتيجة السلبية

تبقى الكريات الحمر مدورةً (الشكل 106.9).

إذا كانت النتيجة سلبية يُعاد فحص المحضر بعد 30 دقيقة أخرى ثم بعد ساعتين وبعد 24 ساعة.



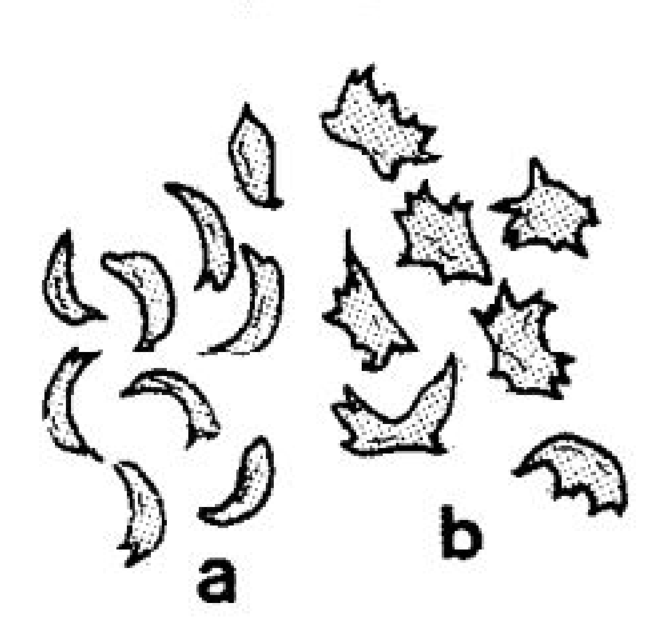
الشكل 106.9. اختبار تحري فقر الدم المنجلي: النتيجة السلبية.

النتيجة الإيجابية

تصبح الكريات الحمر بشكل المنجل أو الموزة (الشكل 107.9 (a))، ويَغْلُب أن تكون محسكة (الشكل 107.9 (b)).

ومن المهم فحص عدة أجزاء من المُحَضَّر لأن التمنجل قد يحصل في أحد الأجزاء بسرعة أكثر من جزء آخر.

ويجب عدم الخَلْط بين الكريات الحمر السوية المستقرة على جَنْبِها أو الكريات المُفَرَّضَة وبين الكريات المنجلية.



الشكل 107.9. اختبار تحري فقر الدم المنجلي: النتيجة الإيجابية.
a: كريات حمر منجلية؛
b: كريات حمر منجلية محسكة.

ملاحظة: يمكن أن تحدث نتائج سلبية كاذبة إذا:

- استُعملت كواشف بعد تاريخ صلاحيتها؛
- كانت تراكيز الهيموغلوبين S منخفضة؛
- كان المرضى مصابين بفقر دم معتدل أو شديد.

إذا كان اختبار الشريحة إيجابياً فينبغي فحص فلم دموي: فالمصابون بفقر الدم المنجلي لديهم كريات منجلية، وكريات حمر منواة، وكريات هدفية، وتَبَكُّل الكريات الواضح، وغالباً وجود الكريات الكبروية؛ أما المصابون بالخلة المنجلية فليسوا في العادة فقيري الدم وهم يبدون مورفولوجيا (أشكال) سويةً للكريات الحمر. وينبغي إجراء الرحلان الكَهْرَبِيّ للهيموغلوبين كلما أمكن ذلك لتأكيد تشخيص الداء المنجلي، ويمكن إجراء ذلك في مختبر مرجعي.

طرق أخرى

- يمكن إجراء الاختبار على الدم الوريدي شريطة أن يكون طازجاً (ساعة–ساعتين) ومع مضاد تخثر (محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات 10%) (الكاشف رقم 22).
- يمكن أيضاً إجراء الاختبار باستعمال أنبوب اختبار بدلاً من طبق بتري، وتتوافر كواشف تجارية لهذه الطريقة.

12.9 تعيين تركيز عدد الكريات الشبكية (الكسر العددي)

الكريات الشبكية هي كريات حمر غير ناضجة تمر من النقي إلى الدم. يدل عدد الكريات الشبكية في الدم على درجة فعالية النقي في إنتاج الكريات الحمر، وعندما يكون النقي فعالاً جداً (كما في فقر الدم) يزداد عددها. تحوي الكريات الشبكية على حبيبات دقيقة بنفسجية قاتمة تتوضع في شبكة، ولا تحوي نواة.

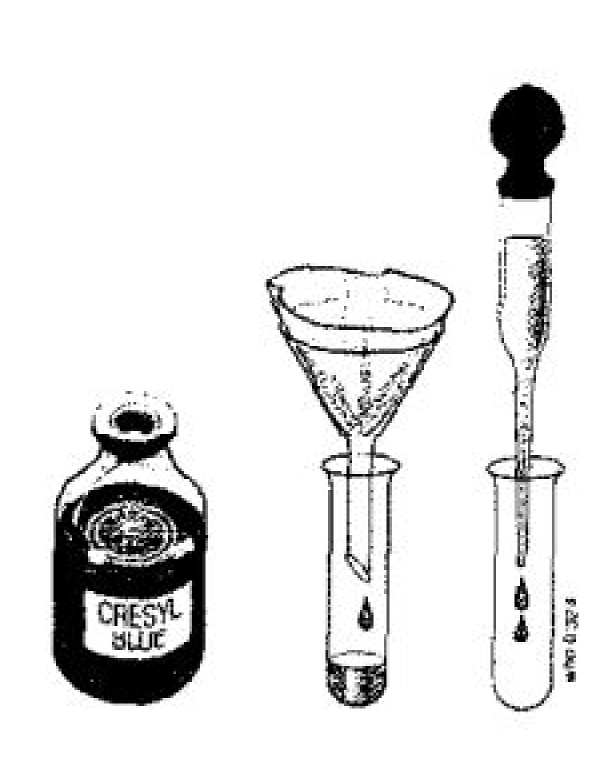
1.12.9 المبدأ

يمكن تلوين الحبيبات الناعمة في الكريات الشبكية بزُرْقَة الكريزيل اللامعة. يُلَوَّن فلم دموي بهذا الصباغ ثم يُفحَص عدد معين من الكريات الحمر بالمجهر، وبنتيجة ذلك يُحْسَب إما:

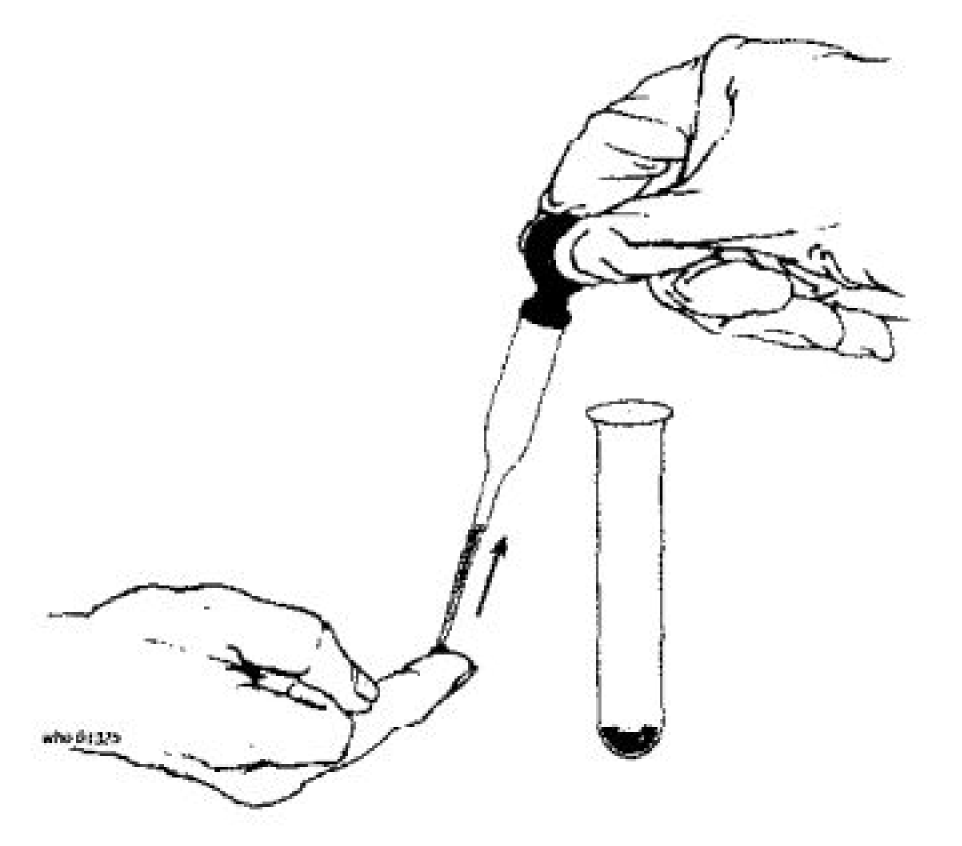
- عدد الكريات الشبكية في اللتر من الدم، وإما
- نسبة الكريات الشبكية بين الكريات الحمر.

2.12.9 المواد والكواشف

- مجهر
- شرائح (خالية من الشحم)
- فارِشَة زجاجية
- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- قمع
- ورق ترشيح
- مِمَصّا باستور ذَوا حَلَمَة
- عداد يدوي، إن وجد
- محلول مشبع من زرقة الكريزيل اللامعة (الكاشف رقم 13)



الشكل 108.9. تحضير محلول زرقة الكريزيل.




الشكل 109.9. أخذ عينة من الدم الشعري.

3.12.9 الطريقة

1. يُرشَّح قليل من محلول زرقة الكريزيل في أُنبوب اختبار، ويوضع في قاع أنبوب آخر قطرتان من محلول زرقة الكريزيل المُرَشَح (الشكل 108.9).
2. تؤخذ بضع قطرات من الدم من إصبع المريض بواسطة مِمَصّ باستور، أو يُستعمل الدم الوريدي المأخوذ على محلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات ويُمزج جيداً (الشكل 109.9).
3. تُضاف قطرتان من الدم إلى الأنبوب المحتوي على قطرتين من محلول زرقة الكريزيل.
4. يُمزَج بخضخضة الأنبوب بلطف، ثم يُسَدّ الأنبوب بالقطن غير الماص، ويُترك 15 دقيقة.
5. يؤخذ الأنبوب ويُخضّ بلطف، ثم تُستَخْرَج قطرة من المزيج وتوضع على شريحة استعداداً لفرشها.
6. تُعمَل لطاخة رقيقة من المزيج بواسطة الفارِشَة (الفقرة 3.10.9). وتترك اللطاخة لتجف بالهواء.

4.12.9 الفحص المجهري

تُفحص اللطاخة باستعمال الشيئية الغاطسة في الزيت 100× (الشكل 110.9)، وذلك في نهايتها حيث تكون الكريات الحمر مفصولة جيداً إحداها عن الأخرى. تتلون الكريات الحمر بلون أزرق شاحب.

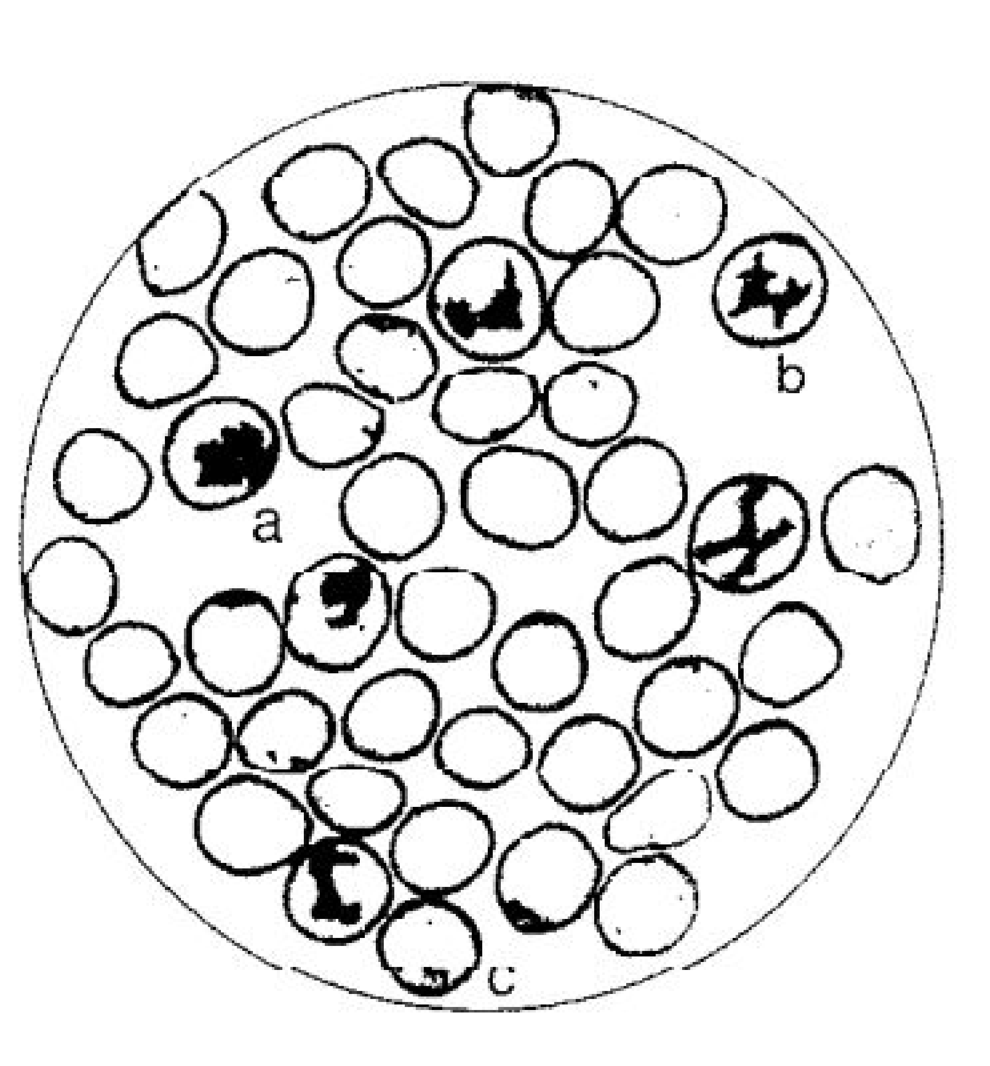
يُفحص ما لايقل عن 100 كرية حمراء. يُسَجَّل العددُ الإجمالي للكريات الحمراء المفحوصة وعددُ الكريات الشبكية من بين هذا العدد الإجمالي (يكون العد أسهل إذا أُنْقِص حجم الساحة المجهرية، ويمكن التوصل إلى ذلك بأن توضع على العدسة العينية قطعة دائرية صغيرة من ورق أسود قاسٍ ثُقِبَ فيها ثقب بقطر 5 مم).

يُفضِّل بعض المختصين بالدمويات أن تُسَجَّل الشبكيات بصورة تركيز عددي (عدد الشبكيات باللتر من الدم)، في حين يفضل الآخرون أن تُسَجَّل بشكل كسر عددي (نسبة الكريات الحمر التي هي كريات شبكية). وبناء على الممارسة المُتَّبَعَة في المختبر الذي تعمل فيه أو ما هو مطلوب من قبل الطبيب يُجْرَى الحساب الملائم[1].

---

1 بالوحدات التقليدية تُسَجّل الكريات الشبكية بشكل نسب مئوية (أي نسبه هذه الكريات –مُعبّراً عنها كنسبة مئوية– من الكريات الحمر الكلية الموجودة في الدم)، فإذا فُحِصت 500 كرية حمراء في فلم الدم وكان عدد الكريات الشبكية بينها هو ع فإن النسبة المئوية للكريات الشبكية تُحسب بضرب ع بالرقم 0.2. مثال: من أصل 500 كرية حمراء مفحوصة عُدّت 25 كرية شبكية، فالنسبة المئوية لهذه الكريات الشبكية إذن هي 25×0.2=5%.

مجال السواء للولدان هو 2.0–6.0% ومجال السواء لسائر الأطفال والبالغين هو 0.2–2.0 %.



الشكل 110.9. فحص لطاخة تحت المجهر.
(a) كريات شبكية غوطجية تحتوي على حبيبات ناعمة بنفسجية قاتمة؛
(b) كريات شبكية تحتوي على خيوط؛ (c) كريات شبكية ناضجة (تحوي بضع حبيبات).

الحساب

لحساب التركيز العددي ينبغي أن نعرف التركيز العددي الإجمالي للكريات الحمر، فإذا كان ت هو التركيز العددي الإجمالي للكريات الحمر (بحذف "$\times 10^{12}$/ل") وكان ع هو عدد الشبكيات المُشاهَدَة بفحص 500 كرية حمراء فإن التركيز العددي للشبكيات هو: ت × 2 ع × 10^{9}/ل.

مثال:

التركيز العددي الإجمالي للكريات الحمر = 4.5×10^{12}/ل

عدد الكريات الشبكية المشاهدة في 500 كرية حمراء معدودة = 6

التركيز العددي للكريات الشبكية = $4.5 \times (2 \times 6) \times 10^{9}$/ل

= $4.5 \times 12 \times 10^{9}$/ل

= 54×10^{9}/ل

(وهذه هي النتيجة التي تُسجَّل).

لحساب الكسر العددي لا نحتاج إلى معرفة التركيز العددي للكريات الحمر، فإذا كان ع هو عدد الشبكيات المُشاهَدَة بفحص 500 كرية حمراء معدودة فإن الكسر العددي للكريات الشبكية هو 2 ع $\times 10^{-3}$.

مثال:

عدد الكريات الشبكية المشاهدة في 500 كرية حمراء معدودة = 6

الكسر العددي للكريات الشبكية = $(2 \times 6) \times 10^{-3} = 12 \times 10^{-3}$

ملاحظة: إذا فُحِصَت أكثر من 500 كرية حمراء في فلم الدم فيجب أن يُعَدَّل الحساب وفقاً لذلك.

المجال المرجعي

يبدي الجدول 11.9 المجالات المرجعية للفئات العمرية المختلفة.

البنى الأخرى التي يمكن أن تُشاهَد في أفلام الدم الملونة بزرقة الكريزيل اللامعة

إن فلم الدم المُلَوَّن بزرقة الكريزيل اللامعة المستعمل لتعيين التركيز العددي للكريات الشبكية والكسر العددي للكريات الشبكية، يمكن أن يبدي أيضاً الأجسام التالية:

أجسام الهيموغلوبين H

وهذه إن وجدت فإنها تُرى بشكل نُقَط زرقاء شاحبة مختلفة الحجم، وخلافاً لشبكة الكريات الشبكية فإنها توجد في معظم الكريات الحمر، وهي توجد في الثلاسيميه ألفا أو في داء الهيموغلوبين H.

الجدول 11.9. التركيز العددي للكريات الشبكية والكسر العددي للكريات الشبكية بحسب الفئة العمرية.

الفئة العمرية	التركيز العددي للكريات الشبكيةأ	الكسر العددي للكريات الشبكية
حديثو الولادة	100–300 × 10^{9}/ل	20–60 × 10^{-3}
الأطفال	8–110 × 10^{9}/ل	2–20 × 10^{-3}
البالغون	8–110 × 10^{9}/ل	2–20 × 10^{-3}

أ – قيم تقريبية، ويعتمد على التركيز العددي للكريات الحمر (انظر: الجدول 7.9).

أجسام هاينز Heinz
وهذه إن وجدت تُرى بشكل حبيبات زرقاء مختلفة الحجم، تستقر في جانب من جوانب الكرية قرب غشائها، وهي تحدث في المرض المعروف باسم عوز إنزيم نازعة هيدروجين فوسفات الغلوكوز 6 G6PD بعد المعالجة ببعض الأدوية أو أكل الفول.

13.9 تعيين الكسر العددي لنمط الكرية البيضاء

1.13.9 المبدأ

تُعَدّ 100 كرية بيضاء ويُسَجّل العدد الموجود من كل نمط، ثم تُسَجَّل النسبة الموجودة من كل نمط من أنماط الكريات البيض بشكل كسر عشري[1].
مثال: العَدِلات 0.56، اللمفاويات 0.25، اليوزينيات 0.12، الوحيدات 0.06، القَعِدات 0.01.
ويجب أن يكون مجموع كل الأجزاء مساوياً للواحد (1).
إذا كان تعداد الكريات البيض الإجمالي معلوماً يُفَضَّل التعبير عن النتيجة على أساس التركيز العددي (أي عدد الكريات باللتر) بدلاً من الكسر العشري.

2.13.9 المواد

- مجهر
- زيت الغطس
- أفلام دموية رقيقة مفروشة جيداً مُلَوَّنة بملون رومانوفسكي (الفقرة 3.10.9)
- ورقة
- قلم رصاص

3.13.9 الفحص المجهري

تُستعمل الشيئية الغاطسة في الزيت 100× ويجري التأكد من أن الكريات البيض مفروشة فَرشاً مُتَناسقاً.
ففي الفلم السيئ الفَرْش يمكن أن تتجمع العدلات في نهاية الفلم.
لتسجيل مختلف أنماط الكريات البيض في أثناء عدها يمكن اتباع الإجراءات التالية:
يُرْسَم جدول يضم:
– خمسة أعمدة (ع، ي، ق، ل، و).
– عشرة أسطر أفقية (الشكل 111.9).
وكلما رُسِمَت عشرة خطوط في السطر الأول يتم الانتقال إلى السطر الذي يليه، وهكذا فحينما يتم امتلاء السطر العاشر فإننا نعرف أننا قد عددنا 100 كرية؛ ثم تُجْمَع الخطوط الموجودة في كل عمود فنحصل على النسبة المئوية لكل نمط.
هذه المَجاميع تعطي النسبة المئوية لكل نمط من أنماط الكريات البيض؛ وتُحَوَّل هذه المجاميع إلى كسور عشرية بوضع فاصلة عشرية على أيسر الرقمين (وفي بعض الحالات ينبغي أن نضيف صفراً بينها وبين الرقم)، وهكذا فإن 59 تصبح 0.59 و 8 تصبح 0.08 و 1 تصبح 0.01 و 28 تصبح 0.28 الخ كما في السطر الأخير من الشكل، وهذه الأرقام أو الكسور العشرية هي الكسور العددية لكل نمط من أنماط الكريات البيض، وهي النتائج التي تُسَجّل عندما تُستعمل الوحدات السّيويَّة SI (وحدات النظام الدولي).

المجال المرجعي
يبدي الجدول 12.9 المجالات المرجعية للفئات العمرية المختلفة.

1. في النظام التقليدي تدعى الكسور العددية لأنماط الكريات البيض باسم "الصيغة الكروية أو التعداد التفريقي للكريات البيض"، وتُسَجّل النسبة الموجودة من كل نمط بشكل نسبة مئوية (مثلاً: العدلات 56%، اللمفاويات 25%، اليوزينيات 12%، الوحيدات 6%، القَعِدات 1% في المثال الآنف الذكر).

	N	E	B	L	M
1	IIII	II		III	I
2	卌 I	I		III	
3	卌 II			III	
4	IIII	I	I	III	I
5	卌 III			II	
6	卌 II	I		II	
7	卌			III	II
8	卌 II	I		II	
9	卌 I	I		III	
10	卌	I		IIII	
Total	59	8	1	28	4
Fraction	0.59	0.08	0.01	0.28	0.04

WHO 98505

الشكل 111.9. جدول لتسجيل الأنماط المختلفة للكريات البيض:
N: عدلات، E: يوزينيات،
B: قعدات، L: لمفاويات،
M: وحيدات

يوجد طرازان رئيسيان لتوزع مختلف أنماط الكريات البيض:

- طراز يبدي أكثريةً من اللمفاويات (يُرى هذا النمط في الرضع والأطفال الذين هم دون 10 سنوات).
- طراز آخر للتوزع يبدي أكثرية من العدلات (يُرى في حديثي الولادة والأطفال الذين هم فوق 10 سنوات والبالغين).

يمكن أن يُسجَّل كل نمط من أنماط الكريات البيض بشكل تركيزه العددي (أي عدد الكريات باللتر) بدلاً من الكسر العددي. ويُحسَب التركيز العددي بضرب الكسر العددي لكل نمط من أنماط الكريات البيض بالتركيز العددي الإجمالي للكريات البيض.

مثال:

التركيز العددي للكريات البيض = 5 × 10^9/ل

الكسر العددي للعدلات = 0.42

التركيز العددي للعدلات = 0.42 × 5 ×10^9 = 2.1 × 10^9/ل.

الموجودات الشاذة:

- كثرة العَدِلات: هي زيادة في نسبة العدلات (أكثر من 0.65)، وهي شائعة خصوصاً في العداوى الحادة.
- كثرة اليوزينيات: هي زيادة في نسبة اليوزينيات (أكثر من 0.05)، وتوحي غالباً بعدوى طفيلية مُوَضَّعَة في الأنسجة (مثل: داء البلهارسيات، داء الفيلاريات، الدودة الشصية، داء الأسكاريس أو الصُفَر)، ويمكن أن تنجم أيضاً عن الأَرَجِيَّة.

الجدول 12.9 الكسور العددية السوية لأنماط الكريات البيض بحسب الفئة العمرية.

الفئة العمرية	نمط الكريات				
	العدلات	اليوزينيات	القعدات	اللمفاويات	الوحيدات
حديثو الولادة	0.65–0.55	0.04–0.02	0.01–0.00	0.35–0.30	0.06–0.03
الرضع (حتى سنة واحدة ماعدا الولدان)	0.48–0.40	0.05–0.02	0.01–0.00	0.48–0.40	0.10–0.05
الأطفال بعمر 1–4 سنوات	0.48–0.36	0.05–0.02	0.01–0.00	0.54–0.44	0.06–0.03
الأطفال (10 سنوات)	0.55–0.45	0.05–0.02	0.01–0.00	0.45–0.38	0.06–0.03
البالغون	0.65 0.55	0.04 0.02	0.01–0.00	0.35–0.25	0.06–0.03

[أ] للحصول على القيم بالوحدات التقليدية (أي كنسب مئوية) تُضرب كل قيمة بـ 100. يُحسب التعداد التفريقي للكريات البيض (أي التعداد المطلق لكل نمط منها) بضرب النسبة المئوية لكل نمط من أنماط الكريات البيض (مثلاً العدلات) بتعداد الكريات البيض الإجمالي وتقسيم الناتج على 100.

مثال:

تعداد الكريات البيض الإجمالي = 5000/مم3

النسبة المئوية للعدلات = 42%

تعداد العدلات "المُطلق" = (42 × 5000) ÷ 100 = 2100/مم3.

- كثرة اللمفاويات: هي زيادة في نسبة اللمفاويات (أكثر من 0.35 في البالغين وأكثر من 0.45 في الأطفال)، وتوجد في بعض عداوى الفيروسات (كالحصبة) وفي بعض العداوى المزمنة (كالملاريا، والسل) وفي بعض الحالات السمية.
- كثرة الوحيدات: هي زيادة في نسبة الوحيدات (أكثر من 0.06)، وتحدث في بعض العداوى الجرثومية (كالحمى التيفية، وكثرة الوحيدات العَدْوائية) وبعض العداوى الطفيلية (كالملاريا، والكالازار (داء الليشمانيات الحشوي)).
- قلة العدلات: هي نقص في عدد العدلات، ويمكن أن يحدث في بعض العداوى (كالإنتان) وبعض الأمراض الأخرى.
- قلة اللمفاويات: هي نقص في عدد اللمفاويات ويمكن أن يحدث في الإيدز.

14.9 تعيين التركيز العددي للصفيحات

1.14.9 المواد

- مجهر
- زيت الغطس
- فلم دموي رقيق مفروش جيداً مُلَوَّن بملون رومانوفسكي (الفقرة 3.10.9)

2.14.9 الفحص المجهري

باستعمال الشيئية الغاطسة بالزيت 100× يُعَدُّ عدد الصفيحات في 20 ساحة ويُجرى تقدير تقريبي لعدد الكريات الحمر بالساحة، ثم تُحسب نسبة الصفيحات إلى الكريات الحمر. فإذا كان تعداد الكريات الحمر معلوماً (الفقرة 5.9) فيمكن حساب تعداد الصفيحات؛ أما إذا لم يكن معلوماً فإنه يمكن إجراء تقدير تقريبي لتعداد الصفيحات -إما "سوي" أو "مرتفع" أو "منخفض"- وذلك استناداً إلى نسبة الصفيحات بشكل تقريبي لكل 500–1000 كرية حمراء سوية.

المجال المرجعي

يبدي الجدول 13.9 المجالات المرجعية للفئات العمرية المختلفة.

الجدول 13.9 تعداد الصفيحات السوي بحسب الفئة العمرية.

الفئة العمرية	تعداد الصفيحات (بالـ مم^3 أو مكل)
الرضع (< 1 سنة)	^{5}10 × 6.6–3.5
الأطفال (1–15 سنة)	^{5}10 × 5.1–2.5
البالغون	^{5}10 × 4.0–1.7

10. كيمياء الدم

* * * * *

1.10 تقدير تركيز الغلوكوز في الدم : طريقة الأورثوطولويدين (1)

يُطْلَب تقدير تركيز الغلوكوز (السكر) في الدم للمساعدة في تشخيص الداء السكري أو أية حالة أخرى يضطرب فيها استقلاب السكريات في الجسم. وفي مرضى الداء السكري يوجد الغلوكوز عادةً في البول (الفقرة 4.2.7).

1.1.10 المبدأ

تُرَسَّب البروتينات في البدء بحمض ثلاثي كلور الأسيتيك، ثم يتفاعل الغلوكوز الموجود في الرُّشاحَة مع كاشف الأورتوطولويدين ليعطي لوناً أخضر، ثم يُقاس هذا اللون بالمقياس اللوني الكَهْرَضَوْئي.

2.1.10 المواد والكواشف

- مقياس لوني
- أنابيب تنبيذ مخروطية وأنابيب اختبار كبيرة (تستوعب 20 مل).
- رفرف أنابيب اختبار
- ممصات دموية (ساهلي): 0.2 مل
- ممصات 0.5 مل – 5.0 مل
- حمام مائي بحرارة 100 س
- كواشف الغلوكوز (الكاشف رقم 30):
  - محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك 3%
  - كاشف الأورثوطولويدين
  - محلول حمض البنزويك 0.1%
  - محلول الغلوكوز المرجعي الخزين 100 ممول/ل
  - محاليل الغلوكوز المرجعي للعمل (2.5،5،10،20،25 ممول/ل)
- دم كامل (شُعَيْري أو وريدي) أو بلازما أو مصل مأخوذ من مريض على الريق (2)
- مصل شاهد

يجب استعمال مصل شاهد مع كل مجموعة من الاختبارات، فإذا كانت نتيجة اختبار المصل الشاهد صحيحة فيمكن افتراض كون نتائج المريض صحيحة أيضاً.

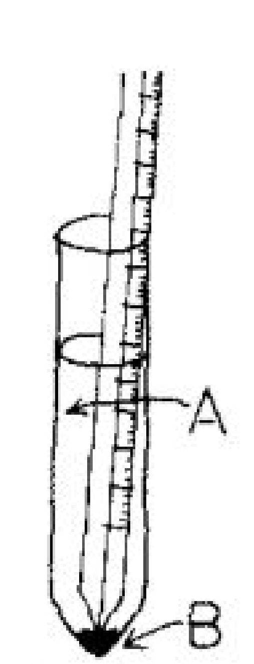
3.1.10 الطريقة

1. في أنبوب تنبيذ مخروطي يوضع 1.8 مل من محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك.

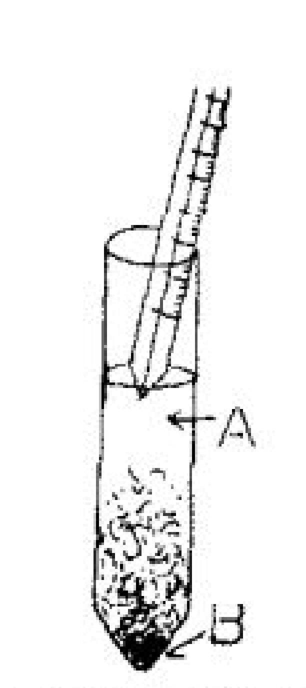
   ملاحظة: حمض ثلاثي كلور الأسيتيك كاوٍ فيجب استعماله بحذر.

---

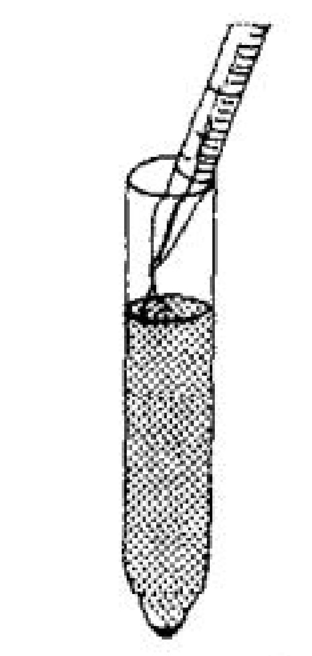
1. تستخدم هذه الطريقة أيضاً لتقدير تركيز الغلوكوز في السائل النخاعي (الدماغي الشوكي) (انظر الفقرة 4.3.8).
2. في حال استخدام دم وريدي ينصح باستخدام الأوكسالات الفلوريدية (الكاشف رقم 26) كمضاد تخثر. وسوف يقي ذلك من تخرب الغلوكوز في الدم.



الشكل 1.10. سكب الدم تحت محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك باستعمال ممص دموي: a: محلول حمض ثلاثي كلور أسيتيك؛ b: الدم.



الشكل 2.10. شطف الممص الدموي بمحلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك.



الشكل 3.10. طرد محلول حمض ثلاثي كلور أسيتيك إلى داخل أنبوب التنبيذ.

2. يُستعمل مَمَصّ دموي سعته 0.2 مل لسكب 0.2 مل من الدم[1] في قاع أنبوب التنبيذ (B في الشكل 1.10) أعني تحت محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك (A في الشكل 1.10)، فيَتَعَكَّر محلول الحمض لدى تماسه بالدم أو البلازما أو المصل.
3. يُسْحَب المَمَصّ ويُمَصّ فيه محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك الرائق لتنطف كل آثار الدم أو البلازما أو المصل (الشكل 2.10).
4. يُمج محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك من الممص إلى أنبوب التنبذ (الشكل 3.10).
5. يُمْزَج جيداً (فيتعكر المحلول بأكمله) ثم يُترك ليستقر مدة 5 دقائق.
6. باستعمال ممص دموي نظيف سعة 0.2 مل يوضع 0.2 مل من الماء المقطر و0.2 من محلول الغلوكوز المرجعي في أنابيب التنبيذ الثاني والثالث على التوالي، كما وصف في المرحلة 2. هذه الأنابيب تستعمل لتحضير الكاشف الذي يخلو من الغلوكوز والغلوكوز المعياري المرجعي على التوالي.
7. تنبذ الأنابيب الثلاثة بقوة 3000 جاذبية لمدة 5 دقائق. والبروتينات المترسبة في الأنبوب الحاوي على نموذج الدم سوف تتثفل وسيتم الحصول على طاف رائق.
8. تؤخذ 3 أنابيب اختبار كبيرة (أو أكثر إن لزم) وتُعَنْوَن، كما يبدو في الشكل 4.10:
   – أنبوب الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز (B).
   – أنبوب المرجعي (R).
   – أنبوب المريض (P).

ملاحظة: إذا أُجري أكثر من تقدير واحد في نفس الوقت، يُعَنْوَن كُلٌّ من الأنابيب P باسم المريض ورقمه.

B R P

الشكل 4.10. عنونة أنابيب الاختبار لإجراء الاختبار:
B: أنبوب يخلو من الغلوكوز؛
R: الأنبوب المرجعي؛
P: أنبوب المريض.

9. يُمَصّ إلى كل أنبوب كما يلي:
- الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز:
  – 0.5 مل من أنبوب التنبيذ الثاني
  – 3.5 مل من كاشف الأورثوطولويدين.
- المرجعي:
  – 0.5 مل من أنبوب التنبيذ الثالث
  – 3.5 مل من كاشف الأورثوطولويدين.
- المريض:
  – 0.5 مل من السائل الطافي من أنبوب التنبيذ الأول.
  – 3.5 مل من كاشف الأورثوطولويدين.

ملاحظة: إن كاشف الأورثوطولويدين كاوٍ.

1. عند إجراء هذا الفحص باستخدام السائل النخاعي (الدماغي الشوكي) فإن الحجم المطلوب في هذه الخطوة أكبر (0.8 مل).



الشكل 5.10. تسخين الأنابيب في حمام مائي.

10. تُمزَج محتويات كل أنبوب ، ثم توضع الأنابيب جميعاً في حمام مائي بحرارة 100 س لمدة 12 دقيقة (الشكل 5.10).
11. تُستخرج الأنابيب وتُترك لتبْرد في دورق من الماء البارد مدة 5دقائق.
12. يُقاس اللون الناتج في مقياس لوني بموجة طولها 630 نم:
(a) توضع المرشحة البرتقالية–الحمراء في المقياس اللوني.
(b) يملأ أنبوب أو كُفَيْت المقياس اللوني بالمحلول الموجود في الأنبوب المُعَنْوَن B (كفئ، خال من الغلوكوز) ويوضع في المقياس اللوني.
(ج) تُضْبَط قراءة المقياس اللوني على الصفر بواسطة الكُفَيْت المحتوي على المحلول B والموضوع في الجهاز.
(د) يُسْكَب المحلول B من الكُفَيْت، ويُشطف الكفيت بقليل من المحلول R (المرجعي)، ثم يُراق هذا الأخير ويُملأ الكفيت بالمحلول R، ثم يوضع الكفيت في المقياس اللوني ويُقرأ التَّماصّ صر.
(هـ) يُراق المحلول R من الكُفَيْت ويُشطف الكفيت بقليل من المحلول P (المريض)، ثم يُراق هذا الأخير ويُملأ الكفيت بالمحلول P، ثم يوضع الكفيت في المقياس اللوني ويُقرأ التماص صم.

تعيير المقياس الضوئي

قبل إجراء قياسات يحضر المخطط التعييري باستخدام تراكيز مختلفة من محلول العلوكوز المرجعي للعمل كما وصف في الخطوات 6–9 . ويجب أن يخط المخطط أعلى تركيز ويجب أن يمر عبر المصدر . يحضر مخطط

جديد كلما تم تبديل كاشف الأرثوطولويدين لتأكيد التوضع الخطي.

4.1.10 النتائج

الحساب

يُحْسَب تركيز الغلوكوز في الدم باستعمال الصيغ التالية[1]:

تركيز الغلوكوز في الدم (ممول/ل) = (صم ÷ صر) × 11.1

حيث

صم = قراءة تماص نموذج المريض

صر = قراة تماص محلول الغلوكوز المرجعي

c = تركيز المحلول المرجعي للغلوكوز

ملاحظة: إذا استُعْمِل مصلٌ شاهد يُجرى حسابه بنفس الطريقة تماماً مع وضع صش (تماص الشاهد) مكان صم (تماص المريض) في الصيغة السابقة.

المجال المرجعي

إن المجالات المرجعيةَ لتراكيز غلوكوز الدم والسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في المرضى على الريق مذكورةٌ في الجدول 1.10.

القيم العالية والمنخفضة

إذا وجدت قيم للغلوكوز مرتفعة أو منخفضة بشكل غير مألوف، فيجب أن يعاد الاختبار للتأكد من النتائج على الوجه التالي:

1. الحساب المعطى للوحدات الدولية. الصيغة لحساب تراكيز غلوكوز الدم بالوحدات التقليدية هي كما يلي: تركيز الغلوكوز (ملغ100 مل) = تركيز الغلوكوز (ملمول/1) × 1 / 0.0555

الجدول 1.10 تراكيز غلوكوز الدم والسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي) في المرضى على الريق.

السائل	تركيز الغلوكوز	
	وحدات النظام الدولي (ممول/ل)	الوحدات التقليدية (مغ/100 مل)
الدم الوريدي	5.5–3.3	100–60
الدم الشُعَيري	5.5–3.9	100 70
المصل	6.4–3.9	115–70
البلازما	6.4–3.9	115–70
السائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)	4.2–2.5	75–45

تراكيز الغلوكوز التي هي أعلى من 16.5 ممول/ل

يُخفَّف المحلولان B (الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز) وَ P (المريض) بكمية مساوية من حمض الأسيتيك الثلجي. يوضع المحلول ك المخفف في الكُفَيْت وتضبط قراءة المقياس اللوني على الصفر، ثم يُقرأ التماص لنموذج المريض (صم) باستعمال المحلول المخفف P في الكفيت. ثم يُعاد حساب تركيز الغلوكوز باستعمال القيمة الجديدة لـ صم وقيمة التماص لمحلول الغلوكوز المرجعي (صر) التي تم الحصول عليها سابقاً، ثم تُضْرَب النتيجة باثنين 2 (لأن المحلول P قد خُفِّف بنسبة 1 إلى 2) للحصول على تركيز الغلوكوز الحقيقي.

تراكيز الغلوكوز التي هي أخفض من 2.3 ممول/ل

إذا حصلنا على قيم منخفضة كهذه فينبغي إعادة الاختبار كله. وفي الخطوة 1 يُستعمل 1.6 مل من محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك (بدل 1.8 مل)، ويوضع في الخطوة 2 مقدار 0.4 مل من الدم أو المصل أو البلازما (بدل 0.1 مل)، ثم يُكمل الاختبار، وتُحسب النتيجة كما تقدم تماماً، ثم تُقَسَّم هذه النتيجة على 4 للحصول على تركيز الغلوكوز الحقيقي.

2.10 تقدير تركيز اليوريا (البولة) في الدم:

طريقة ثنائي أسيتيل مونوكسيم والثيوسيمي كربازيد

اليوريا (البولة) هي منتج فضلات الجسم وتتشكل في الكبد بعد تقويض البروتينات، وهي تمر إلى الدم ثم تُرَشَّح من خلال الكلية لتُفْرَغ في البول. إذا لم تقم الكُلْوَتان بطرح اليوريا فإن تركيزها في الدم يرتفع، ويمكن أن يحدث ذلك إذا تضررت نُبَيْبات الكلى أو نقص حجم الدم الجاري خلال الكليتين.

1.2.10 المبدأ

تُرَسِّب البروتينات في البدء بحمض ثلاثي كلور الأسيتيك، ثم تُفَاعَل اليوريا في الرُشاحة مع ثنائي أسيتيل مونوكسيم بوجود الكاشف الحمضي المُؤَكْسِد والثيوسيمي كربازيد لإعطاء محلول ذي لون أحمر، ثم يُقاس اللون الناتج باستعمال مقياس لوني كَهْرَضَوئي.

2.2.10 المواد والكواشف

- مقياس لوني
- أنابيب مخروطية وأنابيب اختبار (تستوعب 20 مل)
- مِمَصّات سعتها 50 مكل، و 0.1 مل، و 1 مل، و 5 مل
- اسطوانات مُدَرَّجة سعتها 50 مل
- حمام مائي بحرارة 100 س
- كواشف اليوريا (الكاشف رقم 62):
  - محلول حمض ثلاثي كلور الأسيتيك 10%
  - كاشف لوني
  - محلول اليوريا المرجعي للعمل (10 ممول/ل)
  - محلول خزين ثنائي أسيتيل مونوكسيم.
  - محلول اليوريا المرجعي الخزين (125 ممول/ل)
- الكاشف الحمضي (الكاشف رقم 6).

- الكاشف الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز (الكاشف رقم 11).
- دم المريض (عولج بمحلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات 10%(الكاشف رقم 22))، أو المصل أو البلازما.
- مصل شاهد.

يجب استعمال مصل شاهد (معلوم التركيز) مع كل مجموعة من الاختبارات، فإذا كانت نتيجةُ اختبار المصل الشاهد صحيحةً فيمكن افتراض كون نتائج المريض صحيحة أيضاً.

3.2.10 الطريقة

1. يُحضَّر الكاشف اللوني قبل استعماله مباشرة بإجراء تخفيف بنسبة 1:1 لكاشف ثنائي أسيتيل مونوكسيم وثيوسيمي كربازيد الشغال في الكاشف الحمضي. يُحضَّر على الأقل 15 مل من الكاشف اللوني لكل اختبار. يُمزج الكاشف اللوني في أنبوب اختبار كبير أو حَوْجَلَة صغيرة.
2. يمص إلى أنبوب تنبيذ مخروطي 50 مكل من الدم الكامل (المُعامَل بمحلول الملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات) أو المصل أو البلازما.
3. يُضاف 1 مل من حمض ثلاثي كلور الأسيتيك ويُمْزَج. ثم يُنبَّذ بسرعة كبيرة (قوة نابذة 3000 جاذبية) مدة 5 دقائق لتثفيل البروتينات المُتَرَسِّبَة والحصول على سائل طافٍ رائق.
4. تؤخذ ثلاثة أنابيب اختبار كبيرة (أو أكثر إن لَزِم) وتُعَنْوَن كما يبدو في الشكل 4.10:
   – أنبوب الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز (B). – الأنبوب المرجعي (R). – أنبوب المريض (P).

ملاحظة: إذا أُجري أكثر من تقدير واحد في نفس الوقت، يُعنْوَن كُلٌّ من الأنابيب P باسم المريض ورقمه.

5. يُمَصّ إلى كل أنبوب كما يلي:
   - الكفيء الذي يخلو من الغلوكوز:
     – 0.1 مل من الكاشف الكفيء.
     – 3.0 مل من الكاشف اللوني المُحَضَّر حديثاً.
   - المرجعي:
     – 0.1 مل من المحلول المرجعي الشغال.
     – 3.0 مل من الكاشف اللوني المحضر حديثاً.
   - المريض:
     – 0.1 مل من السائل الطافي.
     – 3.0 مل من الكاشف اللوني المحضر حديثاً.
6. تُمْزَج محتويات كل أنبوب ثم توضع الأنابيب جميعاً في حمام مائي بحرارة 100 س لمدة 5 دقائق للسماح بظهور اللون الأحمر (الشكل 5.10).
7. تُخرَج الأنابيب وتُترك لتبْرُد في دَوْرَق من الماء البارد مدة 10 دقائق حتى تنخفض إلى درجة حرارة الغرفة
8. يُقاس اللون الناتج في مقياس لوني بطول موجة 520 نم:
   (a) توضع المرشحة الخضراء في المقياس اللوني.
   (b) يملأ أنبوب أو كَفَيْت المقياس اللوني بالمحلول الموجود في الأنبوب الكفيء ويوضع في المقياس اللوني.
   (ج) تُضْبَط قراءة المقياس اللوني على الصفر بواسطة الكُفَيْت المحتوي على المحلول ك والموضوع في الجهاز.
   (د) يُسْكَب المحلول من الأنبوب الذي يخلو من الغلوكوز (B) الكُفَيْت، ويُشطف الكفيت بقليل من المحلول المرجعي (R) ، ثم يُراق هذا الأخير ويُملأ الكفيت بالمحلول المرجعي (R) ، ثم يوضع الكفيت في المقياس اللوني ويُقرأ التَّماصّ من نموذج الغلوكوز المرجعي (صر).
   (هـ) يُراق المحلول (R) من الكُفَيْت، ويُشطف الكفيت بقليل من المحلول P من نموذج (المريض)، ثم يُراق هذا الأخير ويُملأ الكفيت بالمحلول من الأنبوب المرجعب (R)، ثم يوضع الكفيت في المقياس اللوني ويُقرأ التماص صم (نموذج المريض).

4.2.10 النتائج

الحساب

يُحسب تركيز اليوريا في الدم كما يلي[1]:

تركيز اليوريا (ممول/ل) = (صم ÷ صر) × 16.7

صم = قراءة تماص نموذج المريض

صر = قراة تماص محلول الغلوكوز المرجعي

المجال المرجعي

إن المجال المرجعي لتركيز اليوريا الدموية هو حوالي 3–7 ممول/ل (18–42 مغ/ 100مل)

القيم المرتفعة

إذا حصلنا على قيمة أكبر من 25 ممول/ل (150 مغ/100 مل) يُعاد الاختبار كله باستعمال 0.1 مل من الدم الكامل (المُعامَل بالملح الثنائي البوتاسيوم للإيديتات) أو المصل أو البلازما مع 0.9 مل من الماء المقطر في الخطوة 2، ثم يُجرى الاختبار وتُحسَب النتيجة كما تقدم تماماً ولكن تُضْرب النتيجة باثنين للحصول على تركيز اليوريا الحقيقي.

1. الحساب المُعطى للوحدات الدولية. الصيغة لحساب تراكيز يوريا الدم بالوحدات التقليدية هي كما يلي: تركيز اليوريا (ملغ 100 مل) = تركيز الغلوكوز (ملمول/1) × 0.167/1

11. الطرائق المناعية والمصلية

إن الكثير من الطرائق التشخيصية المُطَبَّقة في المناعيات تستند إلى حقيقة أن المستضدات والأضداد تتآثر (تتبادل التأثير). ويُشَخَّص معظم الأمراض المُعْدِيَة باستفراد الكائن الحي المُعْدي وتعيين هويته في نموذج مأخوذ من المريض؛ وفي بعض الحالات تكون الأحياء صعبةَ الزرع والاستفراد أو يمكن أن تتطلب طرائق خاصة وغالباً غالية الثمن كما أنها غير متوافرة للتشخيص الروتيني. وفي اضطرابات مناعية أخرى لا يوجد كائن حي بذاته لِتُعَيَّن هويته أو يُسْتَفْرَد؛ وهناك أيضاً بعض الأمراض المناعية الحاصلة „بشكل طبيعي" تُصَنَّف غالباً على أنها أمراض مناعية ذاتية وهي غير ناجمة عن كائن حي ما ولكن يمكن أن تُكشف ببعض الطرائق التشخيصية المُطَبَّقة في المناعيات. ومن هذه الطرائق ما يكشف النواتج الاستقلابية النوعية أو ما قد يكشف الأضداد والمستضدات النوعية. وفي تلك الحالات المرضية والتي يساهم فيها كائن حَيٌّ ما فإن هذه الاختبارات المناعية لا تكشف الكائن الحي مباشرةً ولكنها تُؤَمِّن بَيِّنات على وجوده

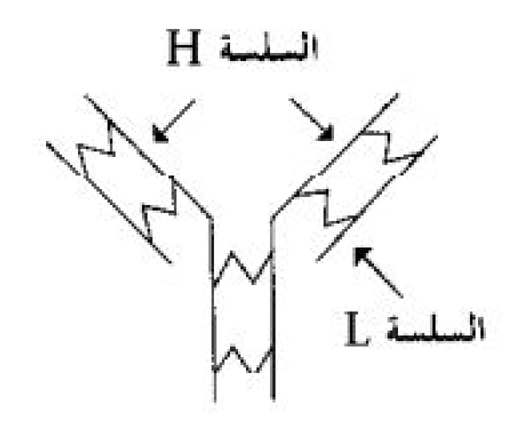
وقد جرى هنا وصف عدد من الطرائق التشخيصية المستندة إلى التفاعلات البيولوجية باستعمال تآثرات المستضد–الضد، وإن الدخول في تفاصيل حول الجهاز المناعي يقع خارج مجال هذا الكتاب، والهدف هنا هو تقديم بعض المصطلحات والمفاهيم العامة للجهاز المناعي والتي تساعد في فهم بعض الطرائق المناعية الموصوفة. ويُلاحَظ أنه تتوافر طرائق شَتَّى لأغراض تشخيصية مختلفة، ويجب أن يستند اختيارها إلى السؤال المطروح وتوافر الخدمات. هذا وإن الطرائق التشخيصية الموصوفة هنا هي الأكثر استعمالاً كَمعين في تشخيص بعض الأمراض المناعية، ويساعد هذا البحثُ مستعملي هذا الكتاب في تحديد الطريقة (أو الطرائق) الأكثر ملائمةً للحالات الخاصة التي يواجهونها.

1.11 مقدمة إلى المناعيات

إن دور الجهاز المناعي هو الدفاع، ويتكون جهاز الدفاع من اشتراك كل من آليات التَّرَصُّد النوعية وغير النوعية، هذه الآليات التي يمكنها أن تتعرف وتستجيب بحسب المكروبات الغريبة والمُمْرِضَة بشكل كامن.
وإن الدفاعات غير النوعية هي حواجز فيزيائية أو ميكانيكية كالجلد والأغشية المخاطية، وهذه الحواجز موجودة لمنع دخول المُمْرِضات إلى الجسم، وهي تقوم بعملها جيداً ولكن بعض الممرضات تتمكن من دخول الجسم حيث تُخَرَّب على الفور بواسطة الخلايا البَلْعَميَّة كالبَلاعم الكبيرة.
عندما تدخل الأحياء الممرضة إلى الجسم تتنشط آليات الدفاع النوعية، وهذه الآليات تنقسم إلى الجملة الخِلْطِيَّة (المُتَواسَطَة بالأضداد) والجملة المتواسطة بالخلايا. ترتبط الجملة الخِلْطِيَّة بخلايا تُعرف باسم اللمفاويات B والتي هي طلائع الخلايا البلازمية، وتُنتج الخلايا البلازميةُ وتُفْرِز مواداً بروتينية تُعرف باسم الأضداد أو الغلوبولينات المناعية؛ أما الجملة المتواسطة بالخلايا فترتبط باللمفاويات T التي يمكنها أن تتعامل مع الأجسام الغريبة وتُخَرِّبها.

1.1.11 الأضداد antibodies

توجد الأضداد في المصل والحليب واللعاب والدموع والبول وسوائل جسمية أخرى؛ ويكون إنتاج الأضداد في الولدان غائباً عملياً وتكون الحماية مُؤَمَّنَة بالأضداد الأمومية، وذلك بشكل رئيسي من خلال حليب الثدي وتلك التي تعبر المشيمة. ويكون الرضيع النامي مَعَرَّضاً باستمرار لمستضدات بيئيه مختلفه تعزز إنتاج الأضداد.



الشكل 1.11. بنية جزيء الغلوبولين المناعي.

يوجد لدى البشر خمسة أصناف رئيسية للأضداد أو الغلوبولينات المناعية: IgG و IgM ، IgA ، IgE و IgD.

تختلف هذه البروتينات في التحرك الرحلاني، والكتلة الجزيئية النسبية، والبنية المستضدية، ومُعامل التثفل، والشكل، وخواص أخرى؛ ولكل هذه الغلوبولينات المناعية بنية مكونة من أربع سلاسل عديدة الببتيد: سلسلتان طويلتان أو ثقيلتان (H) وسلسلتان قصيرتان أو خفيفتان (L) (الشكل 1.11).

توجد ضمن هذه السلاسل الثقيلة والخفيفة مناطق تُعرف باسم المناطق الثابتة (حيث تكون مُتواليات الحموض الأمينية متماثلة كثيراً) ومناطق متغيرة (تقع عادةً عند نهايات السلاسل) حيث تكون مُتواليات الحموض الأمينية متغيرة كثيراً، وهذه المناطق المتغيرة تعطي للأضداد المختلفة نوعيتها الخاصة بها.

2.1.11 المُسْتَضِدّات Antigens

المستضدات هي جزيئات (بروتينات عادةً) يمكنها أن تثير استجابةً مناعية، وهي تملك مَقَرّات عليها تُعرف باسم المَحَدِّدات المستضدية التي يمكن أن تتعرف الأضداد عليها. ويمكن أن يكون للمستضدات محددات عديدة ذات تَهايُؤات configurations مختلفة أو محددات عديدة لها نفس التهايؤ بحيث أنه يمكن أن يرتبط بهذه المقرات أضدادٌ من نفس النوع أو من أنواع عديدة مختلفة.

يمكن للعديد من الخواص أن تؤثر على اسْتِمْناع immunogenicity المستضد، وستُناقَش باختصار فيما يلي.

التعرف على المستضد كمادة غريبة

إن الخاصة الأهم لمستضد ما هي تلك التي تسمح للجسم بالتعرف على المادة على أنها غريبة. ويكون الجهاز المناعي لفرد ما مؤهلاً في الحالة السوية لتمييز المواد المنتمية إلى الجسم من تلك التي لا تنتمي إليه (الذّات من السِّوَى) ، إلا أن بعض الحالات تُعَطِّل آلية تَحَمُّل الذات ويبدأ الجهاز بالتفاعل ضد ذاته.

الكتلة الجزيئية النسبية

تؤثر الكتلة أو الحجم الجزيئي النسبي لمستضد على استمناعه (قدرته على توليد المناعة)، وكقاعدة عامة تُشَكِّل الجزيئاتُ الكبيرة مستضداتٍ جيدة (أي أنها فعالة في توليد استجابة مناعية) شَرْطَ أن تكون غريبة عن الجسم، أما الجزيئات الصغيرة فهي مستضدات سيئة.

التَّعَقُّد

كلما كان الجزيء معقداً كانت الاستجابة المناعية إزاء المستضد أفضل، فالبروتينات المعقدة تشكل مستضدات "أفضل" من البَلْمَرات polymers المتكررة للشحميات والسكريات والحموض النووية.

الثبات

من الضروري للمستضد أن يكون ثابتاً كي يمكن التَّعَرُّف عليه من قبل الجهاز المناعي.

التَّدَرُّكِيَّة (قابلية التفكك) degradability

يجب أن تكون المادة سهلة التدرك، فَلِكَي تبدأ الاستجابة المناعية يجب أن يكون الجهاز المناعي قادراً على معاملة المادة.

طريقة إعطاء المستضد وجرعته

يجب أن تُعطى المستضدات بشكل صحيح، فبعض المواد تثير استجابة مناعية إذا أُعطيت تحت الجلد ولكنها لا تثيرها إذا أعطيت في الوريد؛ كما أن الجرعة الصحيحة مهمة كذلك إذ أن المستضد الكثير جداً أو القليل جداً قد لا يثير الاستجابة المناعية المرغوبة.

3.1.11 تآثرات interactions المستضد-الضد

يمكن مقارنة الارتباط بين مستضد وضد مع الانطباق الاستثنائي الذي يوجد بين قفل ومفتاحه، فمُحَدِّدَة المستضد (القفل) ذات هيئة مُحَدَّدَة مسبقاً ولن يعطي الانطباقَ التام سوى ضِدٌّ نوعي (المفتاح) يملك مناطق متغيرة ملائمة (الأخاديد والحوافي). على أن الحالة ليست دوماً بمثل هذا الوضوح القاطع، إذ يتحد أحياناً مستضد (بشكل سيئ) مع ضد أُنتج إستجابة لمستضد مختلف مسبباً تفاعُليَّة مُتصالِبَة، ولتجنب هذه التآثرات غير المرغوبة فمن المهم معرفة وتحديد الحساسية والنوعية التحليليتين للاختبارات المناعية المستندة إلى تفاعلات الضد-المستضد.

وتشير الحساسية التحليلية لاختبار مناعي إلى مقدرته على كشف كميات صغيرة من المستضد أو الضد، وتُستعمل كمرادف لِحَدِّ الكَشْف؛ أما النوعية التحليلية لاختبار مناعي فهي مقدرته على قياس المادة التي يُراد قياسها حَصْراً[1]. وإن ما ذُكر يمثل اعتبارات مهمة وخاصةً حين اختيار اختبار جديد، وتتضمن الاعتبارات الأخرى: قابلية التطبيق في بيئة مختبرية ما، والتكلفة، والتوافر، ومستوى الخبرة المطلوبة، والسرعة، والبساطة.

2.11 مبادئ الطرائق المناعية-الكيميائية

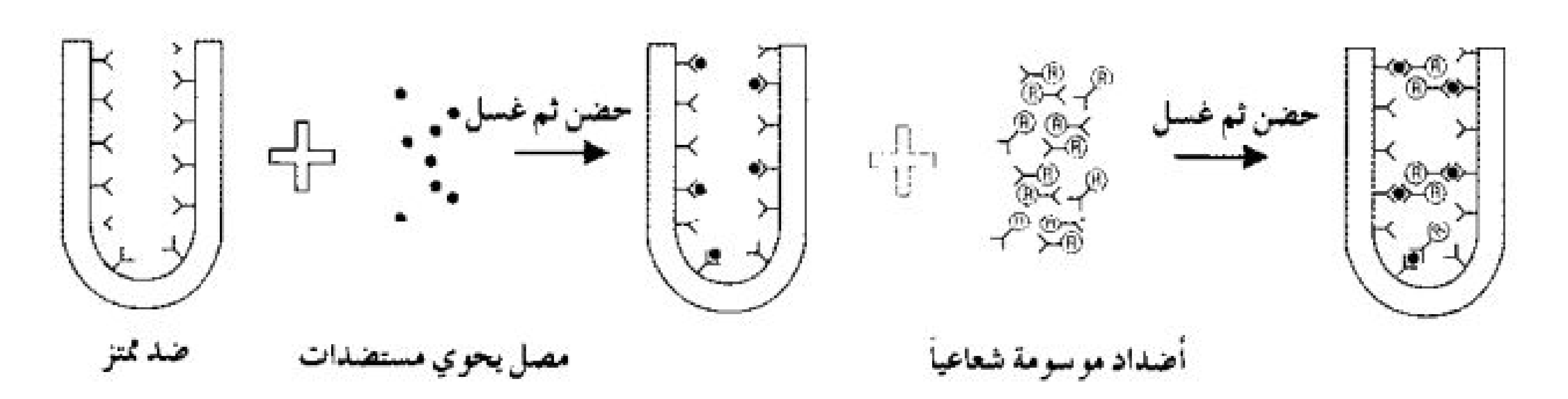
يمكن تصنيف تفاعلات المستضد-الضد في ثلاث مجموعات: تفاعلات الربط الأولية والثانوية والثالثية، وقد وُصِفَت هنا تفاعلاتِ الربط الأولية والثانوية فقط. إذ أن التفاعلات الثالثية تَتْبَع التفاعلاتِ الثانويةَ وتحدث عادةً في الجسم الحي.

1.2.11 اختبارات الربط الأولية

تؤمن هذه المجموعة من الاختبارات قياساً مباشراً لتفاعل الربط البدئي بين مستضد وضد، وهي طريقة حساسة جداً تحتاج إلى واسِم لكشف تفاعل الربط، وتتضمن هذه الاختبارات المقايسات المناعية الشعاعية، والمقايسات المناعية الإنزيمية، ومقايسات التألق المناعي.

المقايسة المناعية الشعاعية radioimmunoassay

في المقايسة المناعية الشعاعية (RIA) يقترن مستضد أو ضد مع مادة مشعة وتقاس الإشعاعية بعَدّاد الوَمَضان (الشكل 2.11). ولا يُستعمل هذا النمط من المقايسة بشكل روتيني، ومَرَدُّ ذلك جزئياً إلى الحاجة لمادة مشعة، وكذلك لأن معدات القياس اللازمة غالية الثمن وصعبة الاستعمال.



الشكل 2.11. مبدأ المقايسات المناعية الشعاعية.

1. يجب عدم الخلط بين حساسية ونوعية الاختبار المناعي وبين حساسية ونوعية التشخيص وفقاً لتعريف كل منها، وذلك للتفريق بين الأشخاص المرضى والأشخاص غير المرضى.

المقايسة المناعية الإنزيمية Enzyme immunoassay

في المقايسة المناعية الإنزيمية (EIA) يقترن مستضد أو ضد مع إنزيم موسوم، ويُنْتج تبدل في اللون بواسطة الإنزيم المتفاعل مع ركيزته، ويمكن أن يُكشف هذا التبدل عيانياً أو بمقياس الطيف الضوئي. وقد تكون حادثة الربط تنافسية أو غير تنافسية. يعتمد الربط التنافسي على التنافس بين مستضد موسوم (مقدار معلوم) ومستضد غير موسوم (مقدار مجهول) على نفس الضد (عند قياس مستضد ما)، أو على التنافس بين ضد موسوم (مقدار معلوم) وضد غير موسوم (مقدار مجهول) على نفس المستضد (عند قياس ضد ما) (الشكل 3.11). يكون مقدار ربط المستضد (أو الضد) الموسوم تابعاً function (بشكل عكسي) للمقدار الموجود من المستضد (أو الضد) غير الموسوم.

الربط غير التنافسي (طريقة الشطيرة sandwich) هو عندما يُمْتَزّ adsorp (أو يُسْتَوْقَفُ) مستضد أو ضد إلى طور صلب وهذا الأخير يمكن أن يكون جُسَيْماً (كرية) غير ذَوّاب أو جوانب أنبوب اختبار أو قاع صفيحة للمعايرة المكروية، ثم تضاف عينة الاختبار المحتوية على الضد أو المستضد الموافق، ويضاف أخيراً ضد أو مستضد موسوم (المُقترِن conjugate) ليشكّل الطبقة العليا للشطيرة (الشكل 4.11). عند الاختبار للتحري عن ضد فإن المُقْتَرِن conjugate يحتوي على ضد للغلوبولين المناعي، وعند الاختبار للتحري عن مستضد فإن المُقْتَرِن conjugate يحتوي على ضد نوعي لذلك المستضد. يكون مقدار ارتباط المُقْتَرِن conjugate متعلقاً مباشرةً بمقدار المستضد أو الضد في عينة الاختبار ولا يُقاس في هذه المقايسة سوى البروتين المرتبط.

مثال جيد لهذا النمط من الطرائق: مقايسة المُمْتَزّ المناعي المرتبط بالإنزيم (إليزا ELISA) ، وتشتمل الإنزيمات الشائعة الاستعمال في طرائق الإليزا على: بيروكسيداز فُجْل الخَيْل، الفسفاتاز القلوية، الليزوزيم، البيتا-غالاكتوزيداز.

لقد حلت طرائق المقايسة المناعية الإنزيمية ELISA مَحَلَّ العديد من طرائق المقايسة المناعية الشعاعية RIA بسبب مزاياها بالنسبة للأخيرة، وتشتمل هذه المزايا على عُمْر تَخْزيني أطول للكواشف، ومُعَدّات أرخص وأبسط، وعدم وجود تشريعات مُقَيِّدة لإرسال الكواشف، واستعمال كواشف أكثر سلامة.

الشكل 3.11. مبدأ المقايسات المناعية الإنزيمية التنافسية.

الشكل 4.11. مبدأ المقايسات المناعية الإنزيمية غير التنافسية.

التَّألُّق المناعي Immunofluorescence

إن الأصبغة التألقية من مثل إيزوثيوسيانات الفلوريسئين (FITC) وإيزوثيوسيانات رباعي ميثيل الرودامين (TRITC) يمكن أن ترتبط بالأضداد دون أن تخرب نوعيتها. ويحدث تألق عندما تعود الجزيئات التي سبق لها أن استُثيرَت إلى حالة أعلى من الطاقة، تعود إلى حالتها السوية من الطاقة؛ ويُطْلَق فائض الطاقة بشكل ضوء. يُستعمل مجهر تألقي –وهو مجهر ضوئي مُعَدَّل– لإظهار الضوء المُصْدَر.

يمكن استعمال نمطين لطريقة التألق المناعي.

التألق المناعي المباشر

يُستعمل التألق المناعي المباشر عند الاختبار للتحري عن مستضد. وفي هذه الطريقة يكون صِبْغٌ متألقٌ مربوطاً بالقسم المعزول لمصل ضدي يحتوي على أضداد مُوَجَّهَة ضد مُكَوِّن نوعي من الخلايا أو النسيج، ويُطَبَّق المصل الضدي على النموذج النسيجي مباشرةً، فيتفاعل المستضد والضد، ثم يُغسل النموذج النسيجي.
يُفحص النموذج النسيجي تحت المجهر فيُرى التألق حيثما يكون الضد مربوطاً بالمستضد (الشكل 5.11).

التألق المناعي اللامباشر

يُستعمل التألق المناعي اللامباشر لإثبات ما إذا كانت الأضداد موجودة في عينة محددة. يُطَبَّق ضد غير موسوم على النموذج النسيجي مباشرةً فيتفاعل المستضد والضد، ثم يُغسل النموذج النسيجي، ثم يُضافُ ضِدٌّ للغلوبولين المناعي ذو واسم متألق ثم يُحضن النموذج النسيجي قبل أن يُغسل ثانيةً.
يرتبط ضِدُّ الغلوبولين المناعي الموسومُ بأي ضد مرتبط سابقاً بالمستضد ويتجلى تحت المجهر بشكل مناطق متألقة (الشكل 6.11). إن الطريقة اللامباشرة هي أكثر حساسية من الطريقة المباشرة لأنها تكون مُضَخِّمَة من حيث أن كل جزيئة ضد غير موسوم يمكنها الارتباط بجزيئتين من الضد الموسوم.

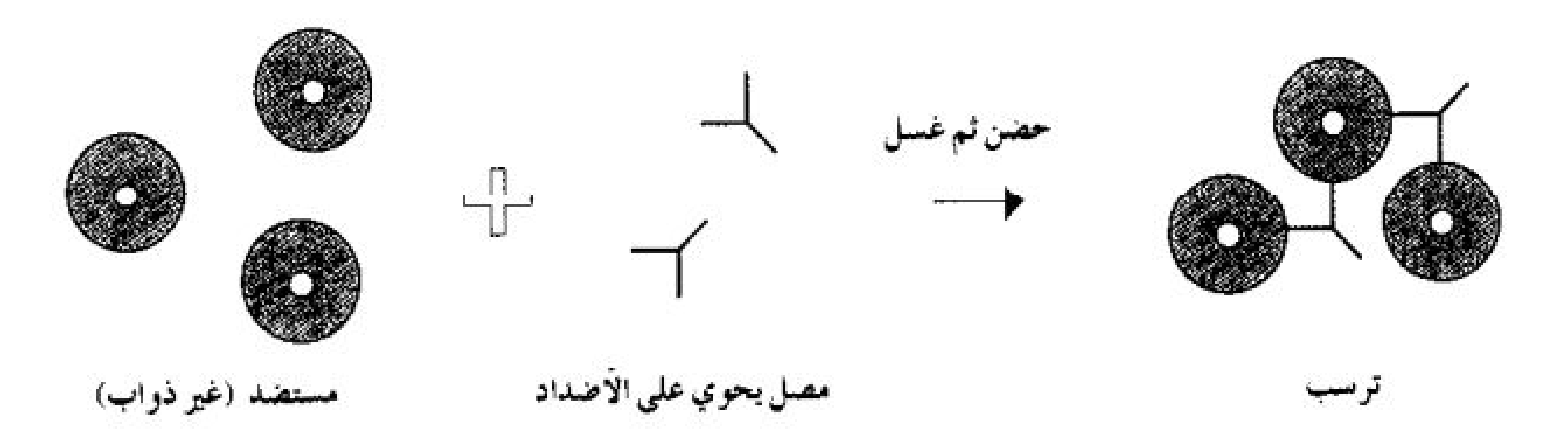
2.2.11 اختبارات الربط الثانوية

تُمَكِّن اختبارات الربط الثانوية من ملاحظة التظاهرات القابلة للرؤية بعد التفاعل الأولي، وفي هذه الاختبارات يمكن فعلاً رؤية آثار حادثة الربط دون مساعدة واسم إضافي. تشتمل هذه الاختبارات على التراص، والترسيب، والتفاعلات المعتمدة على المتممة، وطرائق الاستعدال (التحييد)؛ وتُستعمل طرائق التراص والترسيب روتينياً للأغراض التشخيصية، وستوصف هذه الطرائق باختصار فيما يلي.

الشكل 5.11. مبدأ التألق المناعي المباشر.

مستضد (نموذج خلوي أونسيجي)
ضد
حضن ثم غسل
أضداد الغلوبولين المناعي الموسومة بمادة متألقة
حضن ثم غسل
تألق

الشكل 6.11. مبدأ التفاعل المناعي اللامباشر.



الشكل 7.11. مبدأ التراص.

التراص Agglutination

يتضمن التراصُ تفاعلَ ضد مع مستضد جُسَيْمانِيّ (غير ذَوّاب) مؤدياً إلى تَلازُن (تكتل) هذه الجسيمات (الشكل 7.11)، ويؤدي تآثر المستضدات السطحية والأضداد الموجهة ضدها إلى رَبْطٍ متصالبٍ الجسيمات المتجاورة كالجراثيم لتتشكل شُبَيْكَة من الخلايا المرصوصة.

التراص الفاعل (المباشر)

يساهم في التراص الفاعل مُحَدِّداتٌ مستضدية والتي هي مُكَوِّن داخلي للجُسَيْم مثل تفاعلات التراص الدموي المستعملة لتعيين زمرة الدم.

التراص اللافاعل (اللامباشر)

يساهم في التراص اللافاعل محددات مستضديةٌ ليست مكوناً داخلياً للجسيم. يُضَمُّ مستضدٌ ذَوّاب إلى جسيمات غير ذوابة كالكريات الحمر، وتكون الكريات الحمر مُعامَلَة عادةً بحمض التانّيك الذي يُبَدِّل خواصها السطحية بحيث يمكن للمستضد أن يرتبط بثبات. وتتضمن الجسيمات غير الذوابة الأخرى الجراثيم، والفحم، والبنتونيت (الغَضار)، واللاتكس المتعدد الفاينيل حيث يُمْتَزُّ المستضد بسهولة.

ويمكن إجراء معايرات نصف كمية لتعيين مقدار الضد الموجود في عينة ما. يضاف حجم ثابت من الجسيمات المُعَلَّقَة (المستضد) إلى حجم ثابت من المصل الضدي المُخَفَّف على التسلسل، فيؤدي وجود الضد في المصل إلى تراص الجسيمات (الشكل 8.11) ويُسَجَّل التفاعل عادةً بشكل سلم مُدَرَّج من 0 إلى +4، ويُعَبَّر عن محتوى الأضداد باسم عِيار titre وهو مقلوب التخفيف الأخير للمصل الضدي القادر على إنتاج تراص مرئي.

الشكل 8.11. مبدأ التراص المنفعل.

الشكل 9.11. مبدأ اختبار تثبيط التراص لتحري منمية الغدد التناسلية المشيمية البشرية hCG.

تثبيط التراص Agglutination inhibition

يُستعمل تثبيط التراص لتحديد وجود المستضد، وتستند هذه المقايسة إلى التنافس بين المستضد الجُسَيْمانيّ والمستضد الذواب على المقرات الرابطة للمستضد الموجودة على الأضداد. يُسمح للضد وعينة الاختبار بالتفاعل معاً، فإذا كان المستضد الذواب موجوداً في العينة فإن الضد يتفاعل معه ولن يكون حراً للتفاعل أيضاً بعد إضافة جسيمات أو خلايا مُشْعِرَة indicator لاحقاً، وهكذا يدل غياب التراص بالنموذج المُسْتَقْصى على نتيجة إيجابية للاختبار. ومن الأمثلة على هذا النوع من المقايسة كَشْفُ منمية الغدد التناسلية المشيمية البشرية hCG المستعمل في اختبار إثبات الحمل وكذلك في حالات أخرى مرضية حيث تكون مستويات هذه المنمية hCG مهمة (الشكل 9.11).

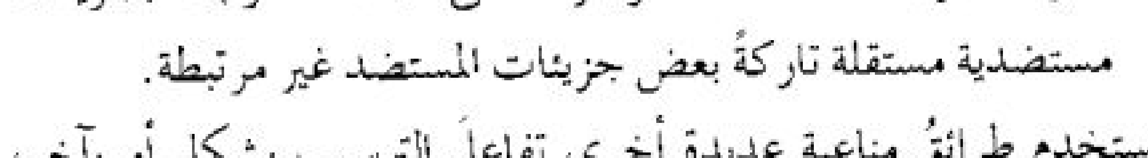
الترسيب Precipitation

بخلاف تفاعلات التراص التي يكون فيها المستضد جُسَيْمانِيّاً (غير ذواب) فإن التآثر في تفاعلات الترسيب يكون بين ضد ذواب ومستضد ذواب، فإذا حُضِن محلول لضد ذواب ومستضد ذواب فإن معقدات الضد والمستضد ترتبط بشكل متصالب وتُشَكِّل رُسابَة. يمكن أن تكون طرائق الترسيب كمية أو كيفية وتعتمد التآثرات على القوة الأيونية (الشاردية) والباهاء pH والتركيز.

كل رسم منحنٍ كمي للمُرَسِّبَة precipitin تُحَدَّدُ فيه نسبةُ المستضد والضد مدى (حجم) الارتباط المتصالب والترسيب، ويبدي المنحنى الملامح التالية (الشكل 10.11):

- منطقة التكافؤ equivalence التي تكون فيها نسب المستضد والضد متكافئة.
- منطقة الضد الفائض excess antibody zone التي تكون فيها كل المحددات المستضدية مرتبطة بجزيئات ضدية مستقلة تاركةً بعض جزيئات الضد غير مرتبطة.
- منطقة المستضد الفائض excess antigen zone التي تكون فيها كلُّ المقرات الرابطه للمستضد الموجوده على الأضداد مرتبطةً بجزيئات مستضدية مستقلة تاركةً بعض جزيئات المستضد غير مرتبطة.


الشكل 10.11. منحنى كمي للمُرَسِّبَة.


تستخدم طرائقُ مناعية عديدة أخرى، تفاعلَ الترسب بشكل أو بآخر، وهي تشتمل على قياس الكَدَر، وقياس العَكَر، والانتشار المناعي الشعاعي (طريقة مانسيني)، والانتشار المُزْدَوِج (أوخترلوني)، وبعض طرائق الرحلان الكهربي المناعي التي تُسْتَعْمَل عادةً لاستعراف البروتينات في سوائل الجسم.

قياس الكَدَر nephelometry وقياس العكر turbidimetry

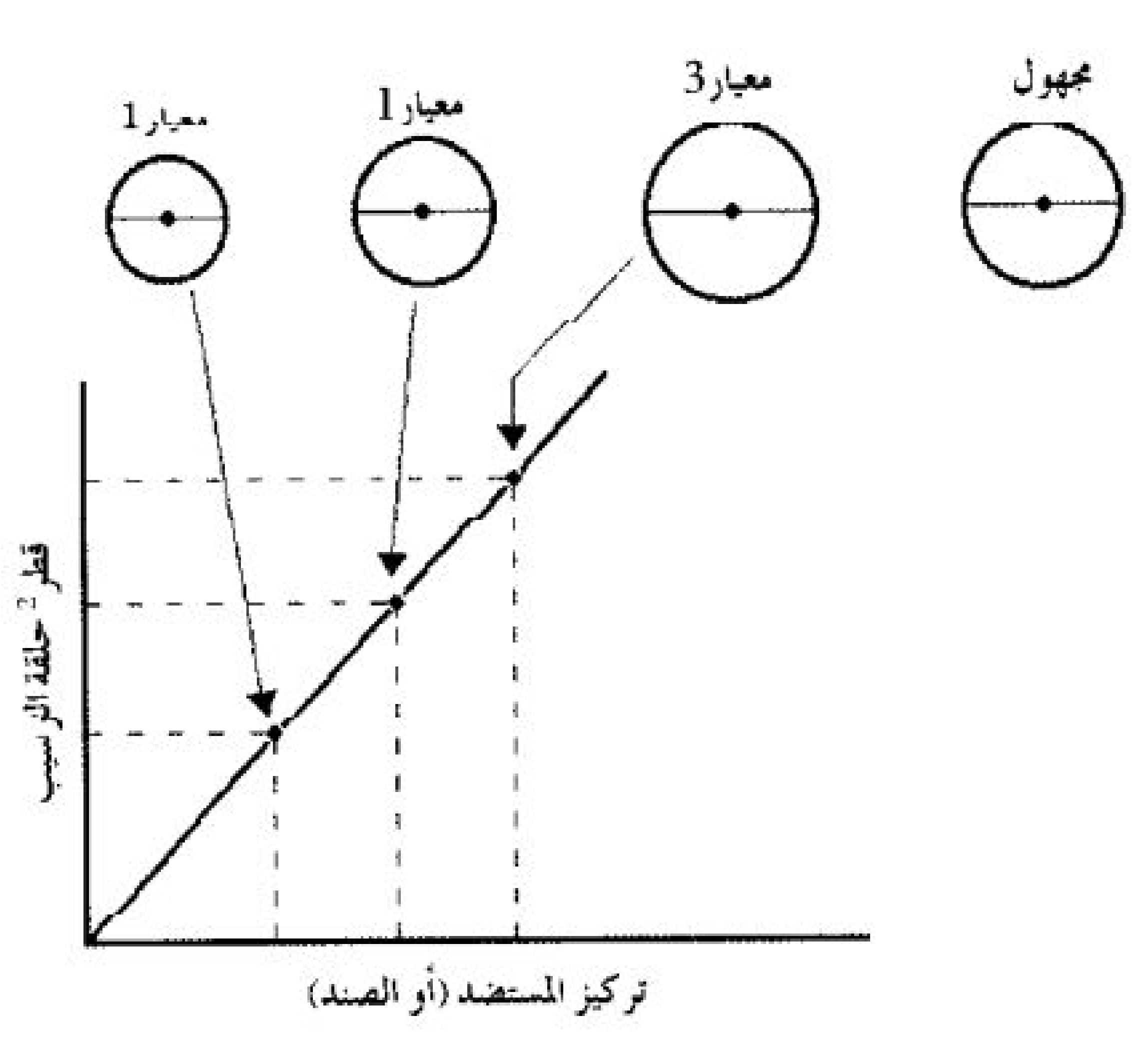
يتضمن قياسُ الكدر وقياسُ العكر قياسَ خواص تَشَتُّت الضوء وامتصاص الضوء، على التوالي، لمعقدات المستضد–الضد. وتُستعمل هذه الطرائق لقياس تراكيز البروتينات والأدوية في المصل والسائل النخاعي (الدماغي–الشوكي)؛ وتكون المقايسات سريعة وحساسة، وفيها يُحضَن مقدار ثابت مفرط من الضد مع مستضد في كُفَيْت.

يمر الضوء في طريقة قياس الكدر عبر الكفيت ويُقاس التشتت الناتج بتأثير معقدات المستضد–الضد التي تم تشكلها، ويُحدد تركيز المستضد من منحنٍ معياري مُهَيَّأ بقياس تشتت الضوء الناتج بتأثير سلسلة من محاليل المستضد المعلومة التركيز، وفي بعض المقايسات، تُضاف بَلْمَرات، لتسريع تشكل معقدات المستضد–الضد.

يمر الضوء في طريقة قياس العكر عبر الكفيت ويُقاس الامتصاص الناتج بتأثير معقدات المستضد–الضد، ويمكن استعمال مقياس ضوئي اعتيادي لهذه الغاية.

الانتشار المناعي الشعاعي Radial immunodiffusion (طريقة مانسيني)

يستند الانتشار المناعي الشعاعي إلى مبدأ أنه توجد علاقة كمية بين مقدار المستضد الموضوع في بئر مُحْتَفَر في هُلامَة أغاروز تحتوي على الضد وبين قطر حلقة الرُّسابَة الناتجة، إذ يكون تركيز المستضد متناسباً مع مُرَبَّع قطر حلقه الرُّسابه، ويُحسب تركيز العينات المجهولة بمساعدة منحنى معياري مُحَضَّر باخْتِطاط plotting (تعيين موقع نقطة في مخطط) مربع قطر حلقة الرُّسابَة الناتجة باستعمال ثلاثة تراكيز معلومة للمستضد (الشكل 11.11) ويمكن استعمال هذه الطريقة للقياس الكمي لعوامل المُتَمِّمَة والغلوبولينات المناعية.



الشكل 11.11. مبدأ الانتشار المناعي الشعاعي.

3.11 تعيين العامل الروماتويدي بطريقة تراص اللاتكس

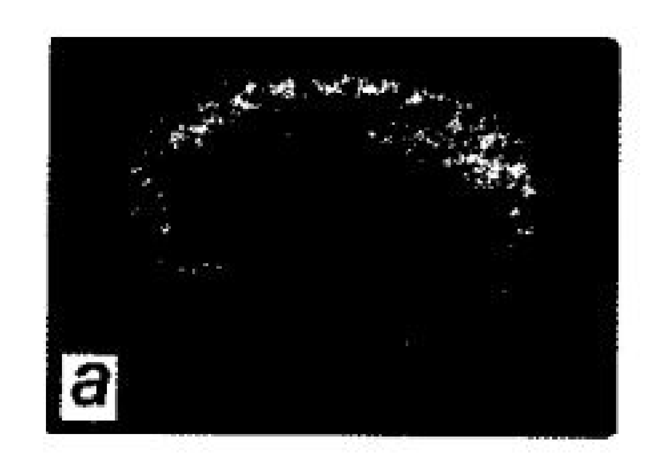
1.3.11 المواد والكواشف

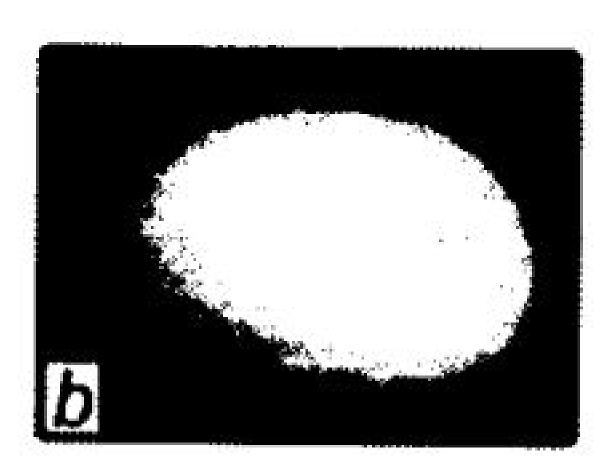
- صفائح اختبار (والأفضل أن تكون ذات خلفية قاتمة)
- قضبان للتحريك، أو عيدان خشبية برتقالية اللون، أو دَوَّارَة rotator
- أنابيب اختبار سعة 5 مل
- رفرف أنابيب اختبار
- مِمَصّات مكروية
- كاشف اللاتكس للعامل الروماتويدي RF (مُعَلَّق مائي لجسيمات اللاتكس المغلفة بـ IgG البشري).
- مصول شاهدة سلبية وإيجابية.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).

إن المواد والكواشف المذكورة أعلاه تزود عادة كجزء من عتيدة الاختبار التجارية.

2.3.11 الطريقة

1. تُترك عينات المصل وكاشف اللاتكس العامل الروماتويدي RF لتصبح بحرارة الغرفة.
2. يُخَفَّف مصل المريض والمصول الشاهدة بنسبة 1:5 بمحلول كلوريد الصوديوم.
3. توضع قطرة واحدة فقط من كل تخفيف على صفائح الاختبار.
4. تُرَجّ زجاجة كاشف اللاتكس للعامل الروماتويدي RF وتضاف قطرة إلى كُلٍّ من العينات على صفائح الاختبار.
5. يُمزج جيداً باستعمال قضبان التحريك أو العيدان البرتقالية (واحد لكل عينة) وتُدَوَّر الصفائح بلطف (حوالي 10 مرات) أو توضع على دَوَّارَة.
6. بعد دقيقتين تُفحص الصفائح وتُقارَن تفاعلات مصول الاختبار مع تفاعلات المصول الشاهدة (الشكل 12.11)
7. إذا كان أيٌّ من المصول إيجابياً تُعاد الخطوات 3–6 باستعمال تخفيف مُضاعَف تسلسلي.
8. إن تخفيف المصل الأعلى الذي يسبب التراص هو العِيار.





الشكل 12.11. اختبار تراص اللاتكس.
a: نتيجة إيجابية؛ b: نتيجة سلبية

4.11 اختبارات تعيين أضداد الحالَّة العِقْدِيَّة O

1.4.11 اختبار ضد الحالة العقدية O (ASOT)

الحالة العقدية O هي ذيفان تنتجه العقديات الحالة للدم، واختبار ضد الحالة العقدية O هو (ASOT) الاختبار المختبري الأكثر استعمالاً لمتابعة عدوى العقديات وعَقابيلها (الحمى الروماتويديه والتهاب كبيبات الكلى الحاد التالي للعقديات). تتوافر الآن أساليب أو طرق أخرى، ولكن ASOT „المعياري" يستند إلى حقيقة أن الحالة العقدية O تحل الكريات الحمر للبشر أو الخروف ما لم تُستَعْدَل بأضداد الحالة العقدية O الموجودة في مصل المريض.

إن وحدة واحدة من الحالة العقدية O هي المقدار الأدنى من الحالة العقدية O الذي يحل 5% مل من مُعَلَّق الكريات الحمر للخروف المُحَضَّر بشكل طازج عند الحضن لمدة ساعة واحدة بحرارة 37 س؛ وتُعَرَّف وحدة تود Todd بأنها مقدار ضد الحالة العقدية O الذي يَسْتَعْدِل 0.5 وحدة من الحالة العقدية O.

المبدأ

يُنْجَزُ الاختبار بحضن مقدار ثابت من الحالة العقدية O المُعَيَّرَة مع تخفيفات تسلسلية لمصل المريض (المحتوي على أضداد الحالة العقدية O) المُعَطَّل بالحرارة، ويُجرى الحضن بحرارة 37 س لمدة 15 دقيقة، ثم يُضاف مُعَلَّق محضر بشكل طازج للكريات الحمر للخروف 5% إلى كل الأنابيب ويُثابَر على الحضن لمدة 45 دقيقة أخرى. بعد التنبيذ بقوة نابذة 500 جاذبية فإن التخفيف الأعلى لمصل المريض الذي ما يزال ذي طافٍ رائق (لا يوجد انحلال للدم) هو نقطة المُنتهى، وتُسَجَّل قيمته بوحدة تود (مقلوب التخفيف). إن هذه الطريقة تستهلك الوقت إلى حد ما، وتتوافر الآن طرق أبسط وأسرع تستعمل تراص اللاتكس (الفقرة 2.4.11).

المواد والكواشف

- حَوْجَلَة ذات تدريجات حجمية سعة 1000 مل
- أنابيب اختبار، 75 مم × 12 مم
- رفارف لأنابيب الاختبار
- مِمَصّات مصلية
- حمام مائي
- مِنْبَذَة.
- دارئة الفُسْفات، الباهاء pH 6.8 (الكاشف رقم 43).
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (المحلول الملحي الإسوي التوتر) (الكاشف رقم 53).
- مُعَلَّق 5% من الكريات الحمر للخروف المغسولة في المحلول الملحي الإسوي التوتر.
- الحالة العقدية O المُخْتَزَلَة (إن تعليمات تحضير الشكل المُخْتَزَل للحالة العقدية O من الشكل غير المُخْتَزَل تكون مُزَوَّدَة من الشركة الصانعة عادةً).

الطريقة

1. تُهَيَّأ ثلاثة تخفيفات لمصل المريض (المُعَطَّل بالحرارة في 56 س لمدة 30 دقيقة) كما يلي:

   0.5 مل من المصل + 4.5 مل من دارئة الفسفات = 10:1

   0.5 مل من المصل 10:1 + 4.5 مل من دارئة الفسفات = 100:1

   1 مل من المصل 100:1 + 4 مل من دارئة الفسفات = 500:1

2. يُهيأ من هذه التخفيفات الرئيسية سلسلةٌ مُوَسَّعَة من التخفيفات كما يبدو في الجدول 1.11؛ ولأغراض التحري تُستعمل فقط الأنابيب السبعة الأولى وأنابيب الشواهد (13 و 14).
3. يُضاف 0.5 مل (مكافئة لوحدة دولية IU واحدة) من الحالة العقدية O الجاهزة للعمل إلى كل الأنابيب باستثناء الأنبوب 13، ثم تُمزج وتُحضن في حمام مائي بحرارة 37 س لمدة 15 دقيقة.
4. يُضاف 0.5 مل من مُعلق 5% من الكريات الحمر للخروف إلى كل أنبوب، ثم تُمزج وتُحضن في حمام مائي بحرارة 37 س لمدة 45 دقيقة مع مزجها ثانيةً بعد الدقائق 15 الأولى من الحضن.
5. تُنبَذ الأنابيب بلطف بقوة نابذة 500 جاذبية لمدة 3 دقائق وتُفحص لتحري انحلال الدم.

إن نقطة المُنْتَهىend – point هي الأنبوب الأخير (أي التخفيف الأعلى) الذي لا يبدي انحلال الدم. يجب ألا يُبدي أنبوبُ الشاهد 13 انحلالَ الدم، فإذا وُجِد انحلال الدم في هذا الأنبوب يجب إعادة الاختبار، أما أنبوب الشاهد 14 Control فيجب أن يبدي انحلالَ الدم تماماً.

الجدول 1.11. تحضير سلسلة التخفيفات لتحري انحلال الدم باستعمال الكريات الحمر للخروف.

رقم الأنبوب	حجم مصل المريض (المُعطَّل) (مل)، المُخَفَّف:			حجم دارئة الحالة العقدية O (مل)	تخفيف المصل الناتج	حجم الحالة العقدية O الجاهزة للاستعمال (مل)	حجم معلق 5% من الكريات الحمر للخروف
	10:1	100:1	500:1				
1	0.8	–	–	0.2	1:12.5	0.5	0.5
2	0.2	–	–	0.8	1:50	0.5	0.5
3	–	1.0	–	0.0	1:100	0.5	0.5
4	–	0.8	–	0.2	1:125	0.5	0.5
5	–	0.6	–	0.4	1:167	0.5	0.5
6	–	0.4	–	0.6	1:250	0.5	0.5
7	–	0.3	–	0.7	1:333	0.5	0.5
8	–	–	1.0	0.0	1:500	0.5	0.5
9	–	–	0.8	0.2	1:625	0.5	0.5
10	–	–	0.6	0.4	1:833	0.5	0.5
11	–	–	0.4	0.6	1:1250	0.5	0.5
12	–	–	0.2	0.8	1:2500	0.5	0.5
13	–	–	–	1.5	شاهد	0.0	0.5
14	–	–	–	1.0	شاهد	0.5	0.5

2.4.11 تراص اللاتكس

المواد والكواشف

- صفائح اختبار
- قضبان للتحريك، أو عيدان خشبية، أو دَوّارَة rotator
- أنابيب اختبار سعة 5 مل
- رفرف أنابيب اختبار
- ممصات مكروية، 50 مكل
- كاشف اللاتكس لضد الحالة العقدية O: معلق لجُسَيْمات اللاتكس المَطْلِيّة بالحالة العقدية O.
- مصل شاهد سلبي
- مصول شاهدة إيجابية (إيجابية قوية وضعيفة)
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53).

الطريقة

1. تُترك الكواشف وعينات المصل لتصبح بحرارة الغرفة.
2. توضع قطرة واحدة من كل عينة وشاهد على صفائح الاختبار.
3. يُرَجّ كاشف اللاتكس لضد الحالة العقدية O كي يمتزج، وتُضاف قطرة واحدة منه إلى كل عينة.
4. يُمزج جيداً بواسطة قضبان التحريك أو العيدان الخشبية (واحد لكل عينة)، وتُدَوَّر الصفائح بلطف حوالي 10 مرات، أو توضع على دَوّارَة.
5. بعد دقيقتين تُفحص الصفائح وتقارن تفاعلات مصول الاختبار مع تفاعلات المصول الشاهدة، ويُستدل على التفاعل الإيجابي بوجود التراص وعلى التفاعل السلبي بغياب التراص.
6. إذا كان أي من المصول إيجابياً تُعاد الخطوات 2–5 باستعمال تخفيف مُضاعَف تسلسلي.

إن التخفيف الأعلى الذي يسبب التراص هو العِيار، وتتصف معظم كواشف ضد الحالة العقدية O بحَدٍّ للكَشْف (مثل 200 وحدة دولية/مل) يُضْرَب عادةً بعامل التخفيف لإعطاء تركيز ضد الحالة العقدية O في المصل مقدراً بالوحدات الدولية/مل.

5.11 تعيين بيتا–منميةالغدد التناسلية المشيمائية البشرية (ß–hCG) في البول بطريقة تثبيط التراص

1.5.11 المواد والكواشف

- صفائح اختبار
- قضبان للتحريك أو عيدان خشبية أو دَوَّارَة
- أنابيب اختبار، 75 مم × 12 مم
- رفرف أنابيب اختبار
- ضد بيتا ـ منمية الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (anti– ß–hCG)
- كاشف اللاتكس لـ hCG (معلق مائي لجسيمات مَطْلِيَّة بـ hCG)
- شاهد سلبي
- شواهد إيجابية (إيجابية قوية وضعيفة)

عادة ما تزود الكواشف المذكورة أعلاه كجزء من عتيدة kit الاختبار التجارية.

2.5.11 الطريقة

1. تُترك عينات البول والكواشف لتصبح بحرارة الغرفة.
2. توضع قطرة واحدة من كُلٍّ من عينات البول وكل من الشواهد على صفائح الاختبار.
3. تُضاف قطرة واحدة من الضد المضاد لمنمية الغدد التناسلية المشيمائية البشرية بيتا anti– ß–hCG إلى كُلٍّ من العينات وكل من الشواهد، ثم يُمزج بعناية.
4. يُمزج مُعلق كاشف اللاتكس لمنمية الغدد التناسلية المشيمائية البشرية بيتا hCG جيداً، ثم توضع قطرة على كُلٍّ من عينات الاختبار وتُدَوَّر الصفائح أو تُمزج بقضبان التحريك أو العيدان الخشبية (واحد لكل عينة).
5. بعد 3 دقائق تُفحص الصفائح وتُقارَن تفاعلات مصول الاختبار مع تفاعلات الشواهد.

يُستدل على التفاعل الإيجابي (حامل أو منمية الغدد التناسلية المشيمائية البشرية بيتا ß–hCG موجودة) بغياب التراص، وعلى التفاعل السلبي (غير حامل أو ß–hCG غائب) بوجود التراص.

التحليل نصف الكمي

يمكن أن يكون التحليل نصف الكمي مرغوباً فيه في بعض الحالات التي قد يكون لإنتاج منمية الغدد التناسلية المشيمائية البشرية بيتا ß–hCG فيها سببٌ مرضي، وهذا يمكن أن يحدث في كل من المريضة الحامل وغير الحامل. يُهيأ تَخفيف مُضاعَف تسلسلي لعينات البول الإيجابية، ويُفحص كما ذُكر في الخطوات 2–5 أعلاه، ويكون التخفيف الأعلى الذي لا يسبب التراص هو العِيار.

تُسَجَّل نتائج هذا التحليل نصف الكمي مقدرةً بـ وحدة دولية/مل، ويمكن الحصول عليها بضرب عامل التخفيف الأعلى الذي لا يسبب التراص بحساسية الطريقة أو حَدّ كَشْفها وفقاً لما تُعَيِّنُه الشركة الصانعة.

6.11 التعيين الكمي للغلوبولينات المناعية لـ IgA و IgG و IgM بالانتشار المناعي الشعاعي

1.6.11 المواد والكواشف

- صفائح زجاجية سيليكونية 8 مم × 12 سم، أو أطباق بتري (زجاجية أو بلاستيكية).
- علب ذات أغطية مُحْكَمة
- خَرَّامَة للثَقْب hole–punch ذات قطر داخلي 2 مم

- ممصات 5 مكل
- حمام مائي
- مقياس حرارة
- أنابيب اختبار
- رفوف أنابيب اختبار
- محلول الأغار 3% في الماء المقطر
- كلوريد الصوديوم 0.15 مول/ل مع أزيد الصوديوم 0.1%
- الأغاروز أو الأغار
- مصل ضدي antiserum ضد مضاد للغلوبولين المناعي IgA البشري
- مصل ضدي ضد مضاد للغلوبولين المناعي IgG البشري
- مصل ضدي ضد مضاد للغلوبولين المناعي IgM البشري
- مصل معياري بشري يحتوي على:
  – الغلوبولين المناعي IgA 2.0 مغ/مل (123 وحدة دولية/مل).
  – الغلوبولين المناعي IgG 9.5 (110 وحدة دولية/مل).
  – الغلوبولين المناعي IgM 0.96 مغ/مل (111 وحدة دولية/مل).

عادة ما تزود الكواشف المذكورة أعلاه كجزء من عتيدة kit الاختبار التجارية.

2.6.11 الطريقة

1. يُغَطَّى عدد من الصفائح الزجاجية (أو أطباق بتري) بحسب اللزوم بمحلول الأغار 3%.
2. يُحسب الحجم الدقيق من هُلامة الأغاروز 1% اللازم تحضيره لتغطية العدد المُفْتَرَض من الصفائح بالهلامة حتى ثخانة 1.5 مم. إن صيغة الحساب هي كالتالي:

$$\frac{^{2}3.14}{4} \times 0.15$$ (انظر: قطر الصفيحة مقدراً بالسنتمتر)

3. يُحضر 40 مل من الأغاروز 1% في كلوريد الصوديوم 0.15 مول/ل مع أزيد الصوديوم 0.1%. يُذاب الأغاروز بوضعه في حمام مائي بحرارة 100 س. عندما يكون المعلق رائقاً يُترك ليبرد إلى 56 س.
4. تُسخَّن المصول الضدية antisera إلى 56 س في الحمام المائي.
5. يُضاف 0.1 مل من المصل الضدي ضد الغلوبولين المناعي IgA البشري إلى كل 10 مل من محلول الأغاروز، ويُمزج جيداً.
6. يُصَبّ فوق كل صفيحة زجاجية (أو طبق بتري) الحجم الدقيق من مزيج الأغاروز–المصل الضدي اللازم لتشكيل هلامة بثخانة 1.5 مم ويُترك ليتصلب بحرارة الغرفة.
7. تُحضر اثنتان من هلامات الأغاروز أيضاً بنفس الطريقة: الأولى باستعمال 0.2 مل من المصل الضدي المضاد للغلوبولين المناعي IgG البشري لكل 10 مل من محلول الأغاروز، والثانية باستعمال 0.13 مل من المصل الضدي المضاد للغلوبولين المناعي IgM البشري لكل 10 مل من محلول الأغاروز.
8. تُخَرَّم ثقوب بقطر 2 مم في الهُلامات.
9. تُحضر تخفيفات مُضاعَفَة تسلسلية للمصل المعياري في كلوريد الصوديوم 0.15 مول/ل كما يلي لتعيين:
   - الغلوبولين المناعي IgA: 1:8، 1:16، 1:32، 1:64، 1:128.
   - الغلوبولين المناعي IgG: 1:20، 1:40، 1:80، 1:160، 1:320.
   - الغلوبولين المناعي IgM: 1:2، 1:4، 1:8، 1:16
10. تُحضر تخفيفات 1:2 و 1:16 و 1:40 لمصول المرضى في كلوريد الصوديوم 0.15 مول/ل لتعيين الغلوبونات IgM و IgA و IgG على التوالي.

11. يُمص 5 مكل من كُلٍّ من تخفيفات المصل المعياري ومصول المرضى وتوضع في الثقوب المختلفة لهلامات الأغاروز الملائمة (كما الخطوتين 6 و 7).
12. توضع الصفائح في علب مغلقة بإحكام في جو رطب وتُحضَن لمدة 3 أيام بحرارة الغرفة.
13. تُقاس أقطار حلقات الرُّسابات (بالميليمتر) باستعمال مسطرة.
14. تُرْسَم مُخَطَّطاتٌ لمُعايَرات المصل المعياري: يُخْتَطُّ (الاخْتِطاط: تعيين موقع نقطة في مخطط) على المحور x مُرَبَّعُ القطر لكل من حلقات الرُّسابات، وتُخْتَطُّ على المحور Y تراكيزُ المصل المعياري (الشكل 11.11).
15. تُستعمل هذه المنحنيات لقراءة تراكيز الغلوبولينات المناعية IgA و IgG و IgM في مصول المرضى.

7.11 اختبارات تعيين أضداد فيروس العوز المناعي البشري (HIV)

1.7.11 مقايسة المُمْتَزّ المناعي المرتبط بالإنزيم (الإليزا ELISA)

المواد والكواشف

- ممصات مكروية
- حاضنة أو حمام مائي بحرارة 37 س.
- غاسِلَة washer أو مضخة مُخَلِّية vacuum pump
- مقياس طيفي ضوئي (قارئ)
- الماء المقطر أو المُزال الأيونات
- عَتِيْدَة kit اختبار الإليزا (متوافرة تجارياً)
- جملة حَمْل الطور الصلب، والكواشف والشواهد.

الطريقة

إن كل عتيدة تكون مُزَوَّدَة بتعليمات خاصة بها يجب اتباعها بعناية، بَيْدَ أنَّ الخطوات العامة هي كما ذُكِرَت أدناه.

1. تُضاف عينة الاختبار (المصل) والشواهد إلى الطور الصلب المَطْلِيّ مسبقاً بالمستضد وتُحْضَن في الحرارة المُعَيَّنَة وللفترة الزمنية الملائمة.
2. تُشفط العينة بعناية من جملة الطور الصلب وتُغْسَل لإزالة فائض العينة والبروتينات الأخرى، ويجب ألا يرفع الغسلُ أضدادَ HIV التي ارتبطت بالطور الصلب خلال الحضن.
3. يُضاف المقدار المُحَدَّد من الغلوبولين البشري المضاد للغلوبولين المناعي IgG المُقْتَرِن conjugate [ضِدّ الغلوبولين البشري (من الماعِز عادةً) المرتبط بالإنزيم] ويُحضَن تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة.
4. يَشفط السائل بعناية مرة أخرى لإزالة أي مُقْتَرِن conjugate غير مرتبط ولغسل جملة الطور الصلب.
5. تُضاف الكمية الملائمة من الرَّكِيْزَة وتُحْضَن تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة. إن هذا هو دور ظهور اللون ويجب حمايته من الضوء.
6. عند نهاية فترة الحضن يُضاف محلول الإيقاف ، وهذا المحلول يُثَبِّط أي تفاعل إضافي بين الإنزيم والرَّكيزَة.
7. تُقرأ النتائج في مقياس طيفي ضوئي في طول الموجة الموصى به.
8. تُحسب القيم الفاصلة (التي تفصل القيم السوية عن القيم غير السوية) (النهائية) لكل سلسلة مُجْراة من الاختبارات تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة.
9. إذا كانت النتائجُ الحاصلة مُلْتَبِسَةً (حَدِّيَة) يُعاد الاختبار في حالة احتمال وجود أخطاء تقنية، وإذا ظلت النتائج الحاصلة ملتبسةً تُفحص العينة باستعمال لطخة ويسْتِرْن، ويمكن بدلاً من ذلك إعادة الاختبار باستعمال جملة إليزا ELISA مختلفة و/أو جملة اختبار سريعة (الفقرة 2.7.11).

يكون الاختبار المُجْرى باطلاً إذا كانت قيم الشواهد الإيجابية أقل من القيم الفاصلة المحسوبة، وفي هذه الحالات يجب إعادة الاختبار.

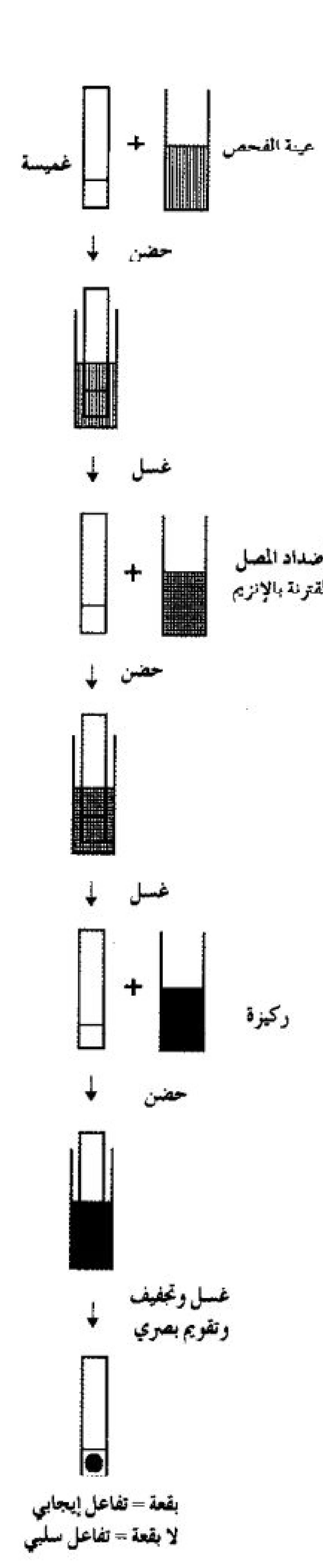
ملاحظة: تختلف معايير اختبار العينات باستعمال لطخة ويسترن من مختبر لآخر، فبعض المختبرات تختبر كل العينات التي تعطي تفاعلاً إيجابياً في طريقة الإليزا، وفي بعض الحالات يمكن أن يُطلب إجراء فحص نوعي بلطخة ويسترن حتى ولو كانت الإليزا غير متفاعلة.

2.7.11 اختبار الغَمِيْسَة Dipstick test

المبدأ

طُوِّرَت اختبارات الغميسة من أجل الكشف السريع للمستضدات والأضداد في المصل البشري، وتُستعمل هذه الاختبارات عموماً في الحالات التي قد تحتاج لاتخاذ قرارات سريعة حول مُتَطَلَّبات العناية بمريض مُحَدَّد. وهي فضلاً عن كونها سريعة، لا تتطلب مُعَدَّات غالباً سوى تلك المُزَوَّد بها في العَتائِد kits.

تَسْتَعْمِل إحدى هذه العتائد –وهي متوافرة تجارياً– طريقةَ „الغميسة dipstick". فمثلاً في اختبارٍ لتحري ضد فيروس العوز المناعي البشري HIV يكون شريطٌ من البوليستيرين مَطْلِيّاً بمستضد فيروس العوز المناعي البشري HIV، ويُترك ليتفاعل مع المصل فيرتبط أيُّ ضد مضاد (لفيروس العوز المناعي البشريHIV) موجود مع مستضد فيروس العوز المناعي البشري HIV، وبعد الحضن لاحقاً مع محلول رَكِيْزِيّ تظهر بقعة ملونة تدل على وجود ضد فيروس العوز المناعي البشري HIV (الشكل 13.11).



الشكل 13.11. مقايسة الغميسة لتحري ضد فيروس العوز المناعي البشري HIV.

المواد والكواشف

- مُؤَقِّت
- نسيج ماص أو ورق ترشيح
- عتائد اختبار متوافرة تجارياً، تحوي غمائس وكواشف وشواهد إيجابية وسلبية
- مصل شاهد إيجابي ضعيف من المختبر.

الطريقة

تُتبع التعليمات المُزَوَّد بها في العتيدة.

يُستدل على النتيجة الإيجابية بأي ظهور لِلَّون على البقعة المطلية بالمستضد، ويجب أن تُرى البقعة على الشاهد الإيجابي وأن لا يُرى أي لون على الشاهد السلبي، كما يجب أن يتضمن الاختبارُ شواهدَ إيجابية ضعيفة من المختبر (الذي يجري التحليل) للمساعدة في قراءة النتائج. يكون الاختبار المُجْرى باطلاً إذا لم تكن النتائج الحاصلة باستعمال الشواهد كما وُصِفَت أعلاه.

8.11 اختبارات عدوى التهاب الكبد

تتضمن الاختبارات الروتينية لالتهاب الكبد استعمالَ واسِمات markers لفيروس التهاب الكبد B وفيروس التهاب الكبد A وفيروس التهاب الكبد C. غالباً ما لا تُجرى اختبارات تحري التهاب الكبد A بشكل روتيني إلا في حالات الأوبئة، على أنه يُرى غالباً لدى الأطفال وخاصةً في دور الحَضَانة nursery والمرحلة السابقة للمدرسة.

ينتقل التهاب الكبد B وC من خلال نواتج الدم وسوائل الجسم والإبر الملوثة والمواد الملوثة الأخرى.

لفيروس التهاب الكبد B واسمات عِدَّة تتضمن:

- المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg).
- ضد المستضد السطحي لالتهاب الكبدB (anti–HBs).
- المستضد الغِلافِيّ لالتهاب الكبد B (HBeAg).
- ضد المستضد الغِلافي لالتهاب الكبد B (anti–HBe).
- ضد المستضد اللُّبِّيّ لالتهاب الكبد B (anti–HBc).

يمكن أن تكون هذه الواسمات موجودة أو غائبة خلال مَساق العدوى، وبشكل عام تدل الواسمات الفيروسية الضدية على تعرض سابق لفيروس التهاب الكبد B في حين تظهر الواسمات المستضدية أولاً أو باكراً بعد التعرض للفيروس.

غالباً ما يحدث انقلاب تَفاعُليَّة المصل (إنتاج الأضداد) بعد عدة أسابيع أو أشهر من التعرض.
يُجرى اختبار التهاب الكبد روتينياً بطرائق مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (الإليزا) ELISA في الطور الصلب والمقايسة المناعية الشعاعية RIA، وتتوافر عتائد تجارية لكشف واسمات التهاب الكبد، وتكون كل عتيدة مُزَوَّدة بمَعايير نوعية وتعليمات خاصة بها. وقد ذُكرت المبادئ العامة لطريقة الإليزا لأحد واسمات التهاب الكبد B فيما يلي.

1.8.11 تحري المستضد السطحي لالتهاب الكبد B بطريقة مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم (الإليزا)

المواد والكواشف

- ممصات مكروية.
- حاضنة أو حمام مائي بحرارة 37س.
- غاسلة washer أو مضخة مُخَلِّية vacuum pump.
- مقياس طيفي ضوئي (قارئ).
- عتيدة اختبار متوافرة تجارياً تحتوي على جملة حَمْل الطور الصلب، والكواشف والشواهد.
- الماء المقطر أو المُزال الأيونات.

الطريقة

1. تُضاف عينات الاختبار (المصل) والشواهد إلى الطور الصلب المطلي مسبقاً بالضد للمستضد السطحي لالتهاب الكبد anti-HBs وتُحْضَن تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة.
2. تُستعمل مُخَلِّيَة أو غاسِلَة آلية لشفط السائل بعناية من الطور الصلب ولغسل الجملة.
3. يُضاف المقدار المُحَدَّد من المُقْتَرِن conjugate (الضد للمستضد السطحي للالتهاب الكبد anti-HBs المرتبط بالإنزيم) ويُحضن تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة.
4. يُشفط السائل ويُغسل لإزالة أي مُقْتَرِن conjugate غير مرتبط.
5. يُضاف المقدار المُحدَّد من الرَّكِيزَة (أورثو-فينيلين ثنائي الأمين OPD عادةً) ويُحْضَن في الظلام. (إن هذا هو دور ظهور اللون ويجب حمايته من الضوء).
6. يُضاف محلول الإيقاف كما هو مُحَدَّد، وهذا المحلول (حمض عادةً) يُثَبِّط أي تفاعل إضافي بين الإنزيم والرَّكيزَة.
7. تُقرأ النتائج في مقياس طيفي ضوئي في طول الموجة المُحَدَّد.
8. تُحسب القيم القَطْعِيَّة (النهائية) لسلسلة الاختبارات المُجْراة تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة.

يكون الاختبار المُجْرى باطلاً إذا كانت قيمُ الشواهد الإيجابية أقلَّ من القيم القَطْعِيَّة، وفي هذه الحالات يجب إعادة المقايسة.

الاحتياطات

إن طريقة الإليزا سهلة الإجراء إلى حد ما، ولكن يجب الانتباه إلى ما يلي:

- التأكد من أن الكواشف والعينات قد أصبحت بحرارة الغرفة.
- عمل تخفيفات ملائمة للكواشف أو النماذج إذا لزم الأمر.
- التأكد من أن المستضد أو الضد المطلي مسبقاً (الطور الصلب) لم يُبْعَثَر خلال إضافة العينة أو الخرزات beads.
- تحضير محلول مُوَلِّد اللون بما يكفي فقط لإجراء سلسلة واحدة من الاختبارات، ويُخْتَزَن المحلول في وعاء مغلق بعيداً عن ضوء الشمس المباشر، وإذا ظهر تلون قبل تطبيق الاختبار فيجب تحضير محلول جديد.
- تجنب التلوث المتبادل للعينات، وعدم السماح للتناثر فيما بينها.
- الالتزام الصارم بأزمنة الحضن ودرجات الحرارة والشروط الأخرى المُحَدَّدة في تعليمات الشركة الصانعة.

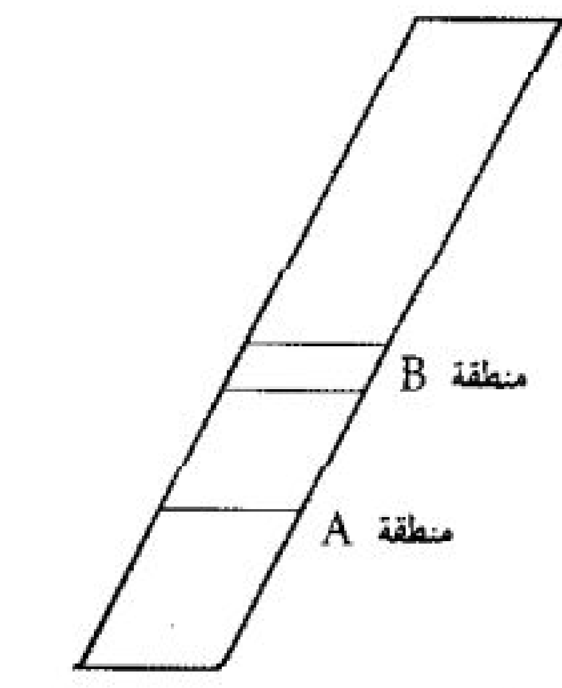
- إضافةً إلى الشواهد الموجودة في العَتيدَة kit، يُوصى بشكل عام بتضمين شاهدٍ من المختبر (الذي يجري التحليل) ذي كثافة بصرية معلومة لأغراض مراقبة الجودة.

2.8.11 اختبار الغميسة لتحري المستضد السطحي لالتهاب الكبد B

المبدأ

يتميز اختبار الغميسة لكشف المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) بتشكل بقعة مرئية بواسطة ترسب مُعَقَّدات مناعية.

تُستعمل مَقْتَرِنات conjugates من الأضداد الأحاديه النسيله مُوَجَّهَةٌ ضِدّ المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) مقرونةٌ بالذهب الغَرَواني، وتكون مُمْتَزَّة adsorbed على منطقة في شريط من النتروسيلُّولوز (المنطقة أ في الشكل 14.11).

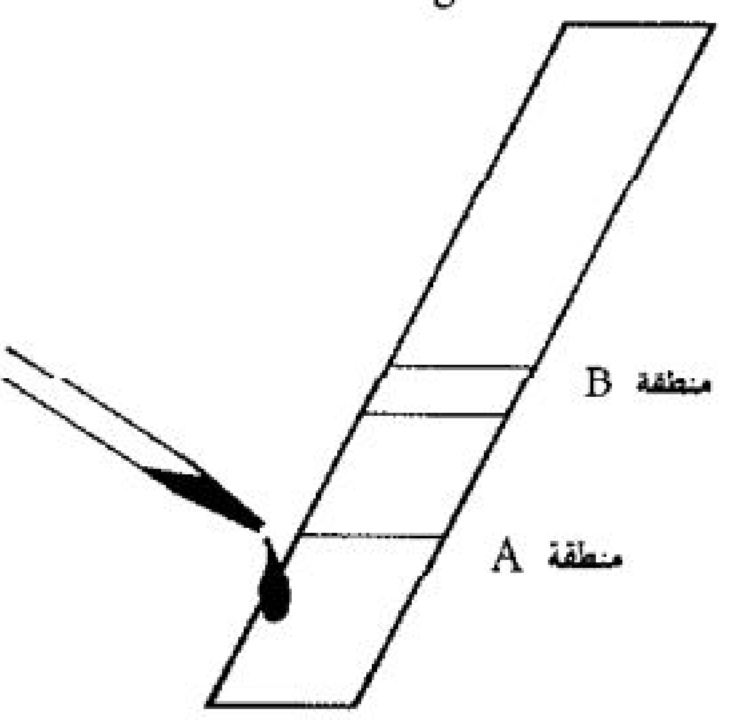


الشكل 14.11. الغميسة لكشف المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg)

وهناك أضداد متعددة النسائل مُوَجَّهَة ضِدّ المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) تكون مُثَبَّتَة كيميائياً على منطقة أخرى من الشريط (المنطقة B في الشكل 14.11). تُطَبَّق نقطة من المصل البشري على المنطقة A (الشكل 15.11)، فيرتبط المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) الموجود في المصل مع المُقْتَرِن conjugate الضدي ثم يهاجر المعقد المناعي الذهب ـ للمستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) عبر الشريط إلى أن يصل إلى الأضداد المتعددة النسائل المثبتة في المنطقة ب حيث تُرَسِّب الأضدادُ المتعددة النسائل المعقدَ المناعي الذهب ـ للمستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg) وتُشَكِّل بقعةً مرئية حمراء في المنطقة B (الشكل 16.11)، ولا تتشكل بقعة حمراء إذا لم يكن المصل محتوياً على المستضد السطحي لالتهاب الكبد B (HBsAg).



المواد والكواشف



الشكل 15.11. وضع عينة الاختبار على الغميسة.

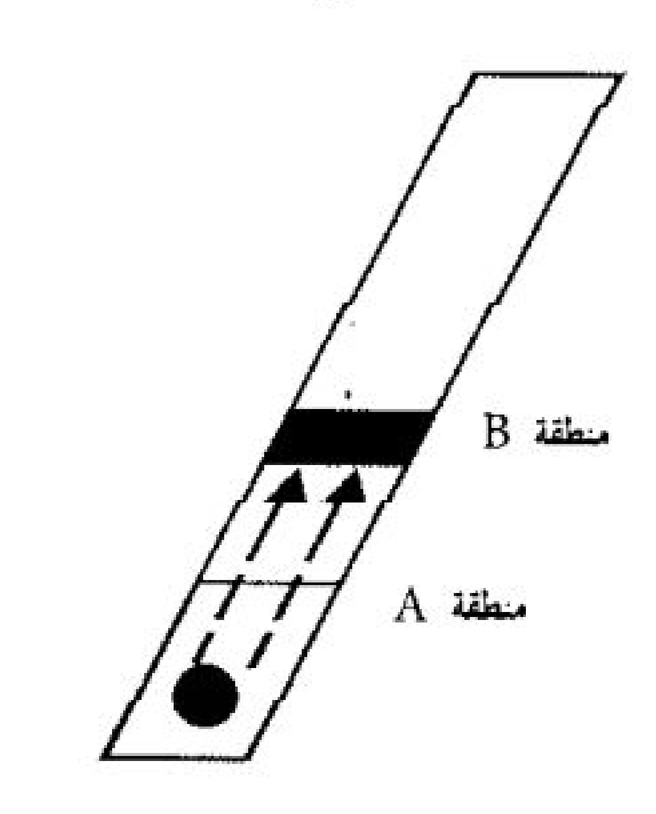
- مصل شاهد إيجابي ضعيف من المختبر.عتيدة kit الاختبار متوافرة تجارياً وتحوي غمائس وكواشف وشواهد.

الطريقة

1. يُعَنْوَن شريط الاختبار باسم المريض و/أو رقمه.
2. يُضاف المصل إلى المنطقة A حسب توصيات الشركة الصانعة.
3. يُترك السائل المصلي ليهاجر إلى المنطقة B على شريط الاختبار.
4. تُعاين المنطقة D بعد 10 20 دقيقة لتحري ظهور بقعة تدل على التفاعل الإيجابي.

9.11 اختبار الغميسة لتحري الملاريا المنجلية

تتوافر اختبارات غميسة لكشف طفيلي الملاريا وهو المُتَصَوِّرَة المنجلية. ويستند الاختبار الموصوف هنا على استعمال أضداد أحادية النسيلة لكشف البروتين II الغني بالهيستيدين HRP–II النوعي للنوع والذي يظهر في الأدوار الدموية اللاجنسية وربما في أدوار العِرْسِيَّة المبكرة للطفيلي.



الشكل 16.11. اختبار الغميسة لـHBsAg: التفاعل الإيجابي.

1.9.11 المواد والكواشف

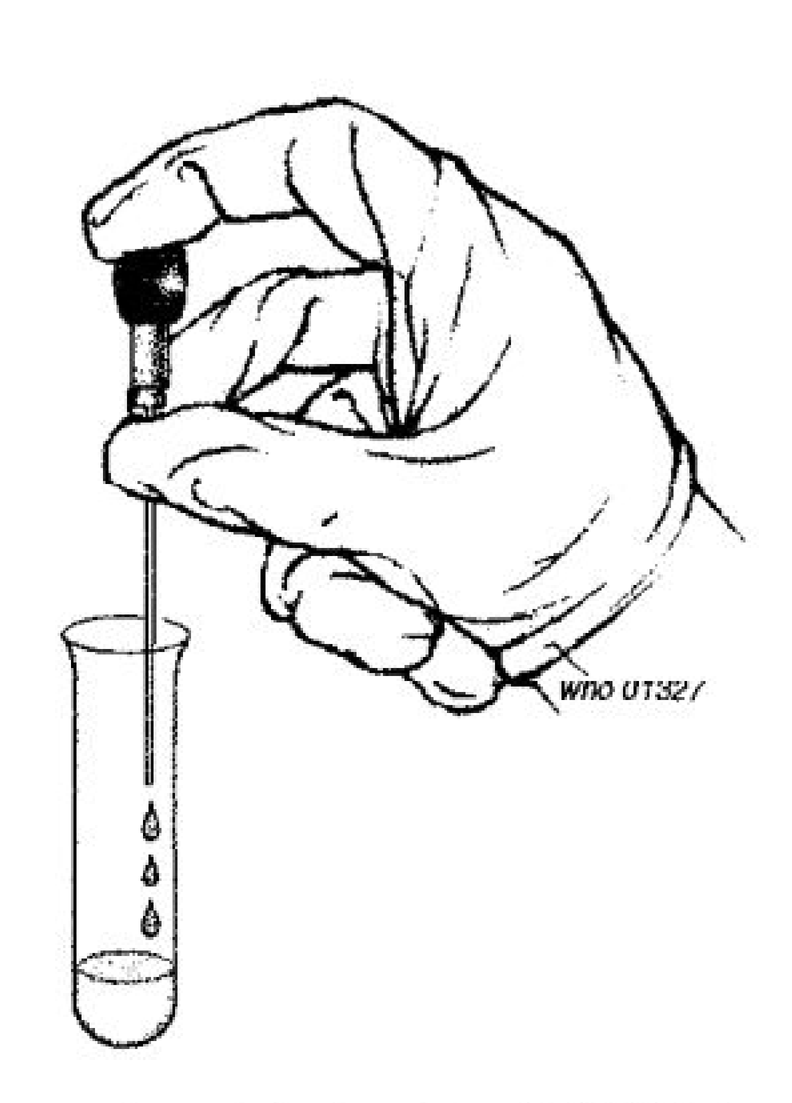
- أنابيب شعرية وبصلات مطاطية
- أنابيب اختبار
- رفوف أنابيب اختبار
- شاخصة لإجراء التفاعل
- عتيدة اختبار متوافرة تجارياً تحتوي على حملة حَمْل الطور الصلب، والكواشف والشواهد.

تكون الغميسةُ مُعامَلَةً مسبقاً بضدّ أحادي النسيلة من الفأر مُوَجَّه ضد البروتين II الغني بالهيستيدين (HRP) ومُطَبَّق بشكل خط عبر الشريط على بعد حوالي 1 سم من قاعدته؛ وهناك خط ثانٍ مُنَقَّط من المستضد للبروتين II الغني بالهيستيدين (HRP) يكون مُدْمَجاً في الغميسة على بعد نحو 2–3 مم فوق خط الضد الأحادي النسيلة ويمثل شاهداً إيجابياً للكاشف.

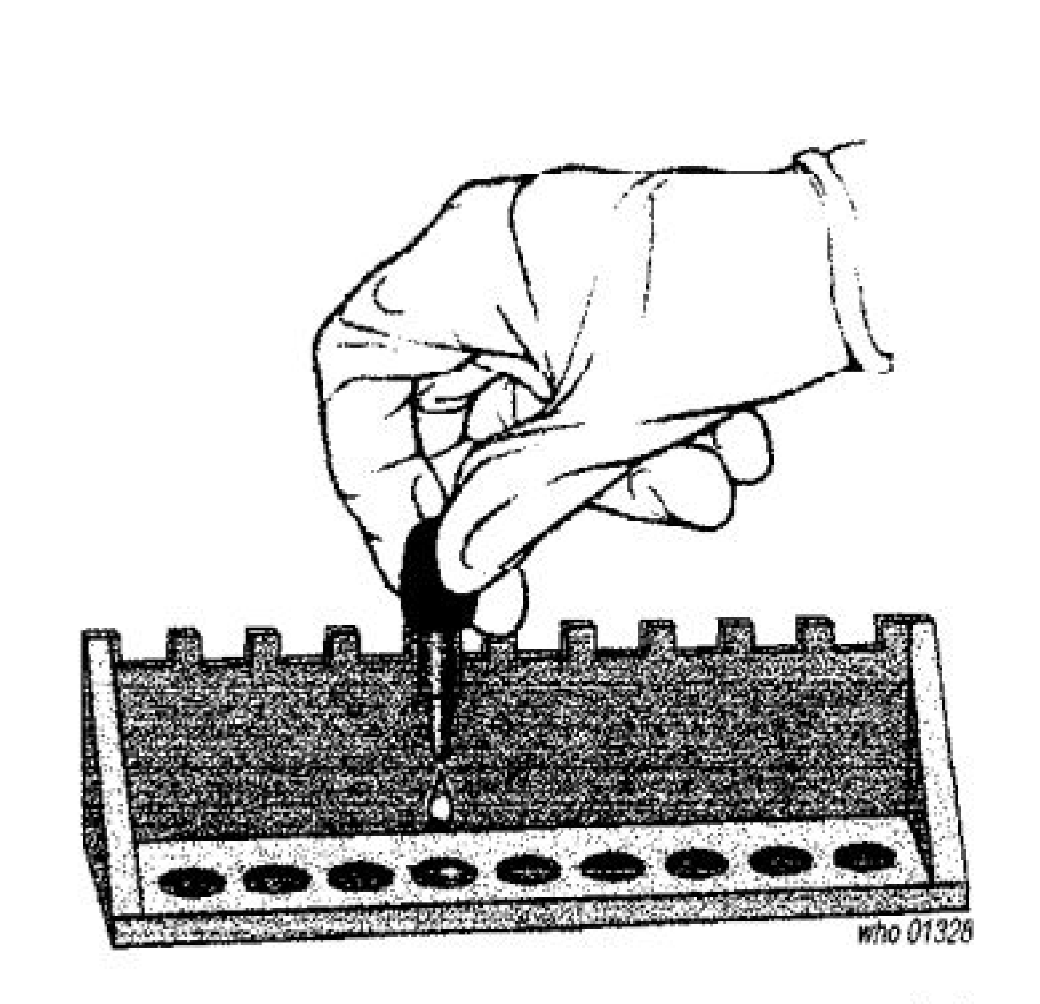
2.9.11 الطريقة

1. تؤخذ عينة دم من وخز إصبع المريض.
2. توضع قطرة واحدة من الدم المأخوذ بوخز الإصبع في أنبوب اختبار يحتوي على 3 قطرات من كاشف الحل (الشكل 17.11).
3. توضع قطرة واحدة من عينة الدم المحلولة في إحدى حُجَيْرات بطاقة الاختبار في حامل التفاعل (الشكل 18.11).
4. يوضع الغميسة في الدم المحلول إلى أن يتم امتصاص الدم كله إلى شريط الاختبار (الشكل 19.11).
5. توضع قطرة واحدة من كاشف التحري على قاعدة الغميسة (الشكل 20.11)، وهذا الكاشف يشتمل على معلق من المُذَيلات micelles (حُوَيْصِلات شحمية فسفورية) المحتوية على السلفو ـ رودامين B كواسِم مقرون بضد أرنبي نشأ ليكون مضاداً للبروتين II الغني بالهيستيدين HRP .
6. عندما يتم امتصاص الكاشف توضع قطرتان من كاشف الغسل لتَرْويق الدم المحلول (الشكل 21.11).

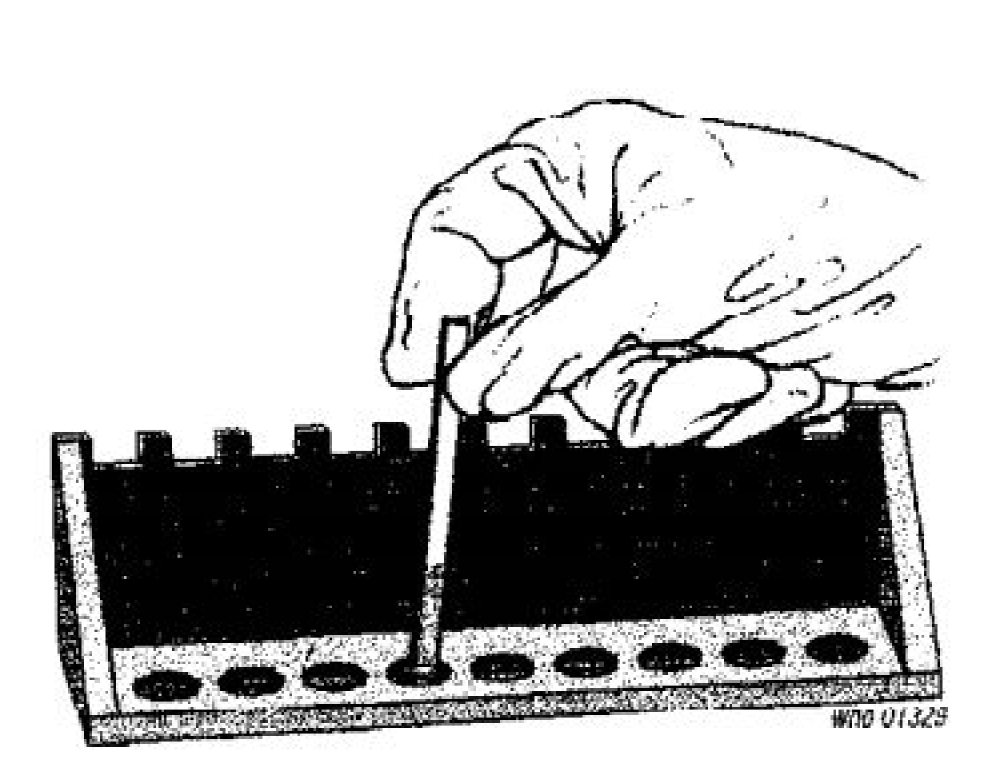
إذا كانت النتيجة إيجابية يُشاهد خط رقيق أحمر عبر الغميسة مع خط متقطع (شاهد الكاشف) فوقه.



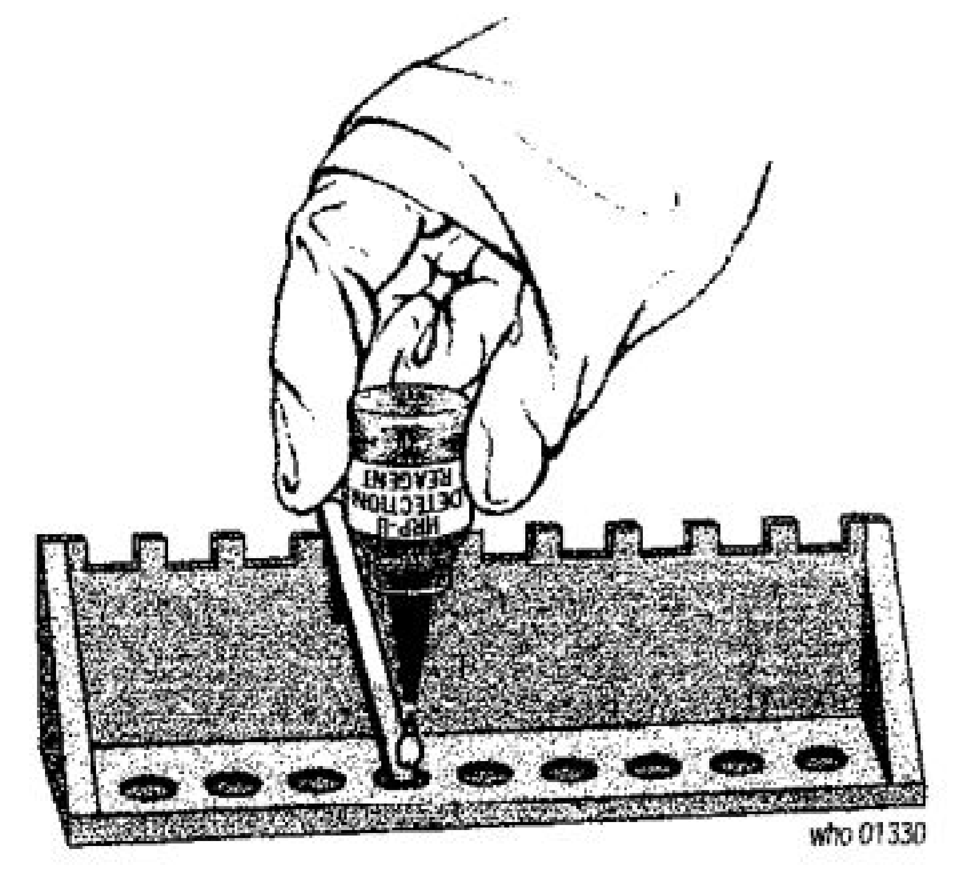
الشكل 17.11. إضافة عينة الدم إلى كاشف الحل.



الشكل 18.11. وضع عينة الدم على بطاقة الاختبار.



الشكل 19.11. وضع الغميسة في الدم المحلول.



الشكل 20.11. وضع كاشف التحري على الغميسة.

إذا كانت النتيجة سلبية فلا يُشاهد سوى الخط المتقطع.

يستغرق الاختبار بكامله أقل من 10 دقائق.

تدل الدراسات الحالية على أن للاختبار حساسية ونوعية 86–95% عند المقارنة مع الفحص المجهري الضوئي المعياري المُجْرى من قبل تقنيين ذوي خبرة. ثمة اختبار مماثل للمتصورة النشيطة قيد التطوير.

10.11 اختبارات تحري عدوى الزهري (السفلس، الإفرنجي)

الشكل 21.11 تنظف الدم المحلول بواسطة كاشف الغسل.

ينجم الزُّهْرِيّ عن اللولبية الشاحبة، وهناك أربعة أدوار لعدوى الزهري: الأولي، والثانوي، والخافي، والثالثي، وحالة خاصة بالانتقال من الأم إلى الجنين تسمى الزهري الخلقي. يمكن تجميع الاستجابات المناعية إزاء الزهري في فئتين: غير نوعية (أو راجِنيَّة) ونوعية.

إن الراجِنَة reagin اللانوعية هي غلوبولين مناعي من الصنف IgM وتتفاعل مع خُلاصَة كحولية لقلب البقر تُعرف باسم الكارديوليبين (فوسفوليبد)، ونظراً لأن الضد الراجني يفتقر إلى النوعية فهو يظهر في العديد من الظروف والحالات المرضية الأخرى التي لا علاقة لها بالعدوى باللولبية، ويمكن في هذه الحالات أن تحدث إيجابيات كاذبة بيولوجية. ويمكن أيضاً أن تظهر أضداد نوعية لِلَوْلبياتِ (تعود لكلٍّ من اللولبية الشاحبة واللولبيات غير الممرضة) النَّبيْتِ الجرثومي السوي للسبيل الفموي أو التناسلي، وهذه الأضداد هي غلوبولين مناعي من الصنف IgG وتبقى قابلة للكشف طوال حياة المريض رغم المعالجة. تتضمن الاختبارات الروتينية لتحري الزهري اختبارَ الراجِنَة البلازمية السريعة RPR، واختبارَ امتصاص ضد اللولبيات التألقي FTA–Abs، واختبار التراص الدموي للولبيات الشاحبة.

المبدأ

اختبار الراجِنَة البلازمية السريعة RPR

لقد حل اختبار RPR الآن محل اختبار VDRL (اختبار مختبر أبحاث الأمراض المنقولة جنسياً) كاختبار تحرٍّ سريع للأسباب الرئيسية الثلاثة التالية:

- لا حاجة لتحضير الكواشف يومياً.
- لا يتطلب وجود مجهر.
- لا يتطلب تعطيل المصل بالحرارة.

يستعمل RPR مستضدَّ VDRL المُعَدَّل بكلوريد الكولين لتعطيل المتممة، وجسيمات الفحم لكي يمكن قراءة نتائج التفاعل دون مجهر؛ ويمكن أيضاً إجراء RPR كاختبار نصف كمي.

اختبار امتصاص ضد اللولبيات التألقي FTA–Abs

يُستعمل اختبار امتصاص ضد اللولبيات التألقي FTA–Abs في إثبات الزهري. وفي الخطوة الأولى للاختبار يُخَفَّف المصل في رُشاحَة زرعية مُرَكَّزَة للولبيات رايتر لامتصاص أي أضداد موجهة ضد اللولبيات غير الممرضة، ثم يُفرش المصل بشكل طبقة على شريحة زجاجية سبق أن ثُبِّت عليها أحياء مقتولة للولبية الشاحبة (ذُرِّيَّة نيكولاس)، ثم تُحضن الشريحة وتُغسل وتُكسى بضدٍّ مُضادٍّ للغلوبولين المناعي البشري موسوم بمتألق، فإذا كانت نتيجة الاختبار إيجابية فستتألق اللولبيات.

إن طريقَة التألق المناعي اللامباشر هذه حساسةٌ للغاية في كل أدوار الزهري وخاصةً في الأدوار المبكرة جداً والمتأخرة جداً، وحالما تكون نتيجة هذا الاختبار إيجابية فإنه يبقى كذلك طوال حياة المريض. لا يُستعمل هذا الاختبار كاختبار تحرٍّ للزهري لأنه لا يكشف عودةَ العدوى كما أنه مستهلك للوقت ومكلف (يتطلب مجهراً مُؤَلِّقاً ذا مكثفة للساحة المظلمة).

يجب أن تُفَسَّر نتائج اختبار ما لتحري الزهري تبعاً لنمط (أنماط) الاختبار المستعمل ودور المرض الذي وصل إليه المريض؛ ويجب التذكر أن نتيجة إيجابية لاختبار تحرٍّ للزهري قد تكون ناجمة عن أضداد أخرى غيْرَوِيَّة

heterophile أو طريقة معيبة أو وجود أضداد للولبيات أخرى. إن اختبار التحري السلبي للزهري يمكن أن يعني واحداً مما يلي:

- العدوى حديثة جداً بحيث لم تتمكن من إنتاج أضداد تعطي تفاعلات إيجابية.
- الاختبار غير متفاعل مؤقتاً بسبب المعالجة التي تلقاها المريض.
- أصبح الاختبارُ غيرَ متفاعل مؤقتاً لأن المريض قد تناول الكحول قبل الاختبار.
- المرض خافٍ أو خامل.
- لم يُنتِج المريضُ أضداداً واقية بسبب التحمل المناعي.
- الطريقة مَعيبَة.

يمكن أن تنجم النتائج الإيجابية الضعيفة عن:

- العدوى المبكرة جداً؛
- انخفاض نشاط المرض بعد المعالجة؛
- التفاعلات المناعية اللانوعية؛
- طريقة غير صالحة.

إن القيمة الأكبر للاختبارات غير اللولبية تكمن في التحري تِلْوَ المعالجة وفي كشف عودة العدوى.

اختبار مقايسة التراص الدموي للولبية الشاحبة TPHA

يستخدم اختبار مقايسة التراص الدموي لولبية الشاحبة TPHA أيضاً لتأكيد الإفرنجي. في الخطوة الأولى من الاختبار، يمزج المصل مع محل ماص يحوي لولبيات رايتر غير الممرضة. ثم ينقل المصل إلى صفيحة عيار مكروية حيث تضاف إليها الكريات الحمر المحسسة للولبيات الشاحبة المقتولة (ذرية نيكولاس). إذا كانت نتيجة التفاعل إيجابية، فإن الكريات الحمر ستشكل كتلة خلوية متراصة ملساء.

1.10.11 اختبار الراجِنَة البلازمية السريعة RPR

المواد والكواشف[1]

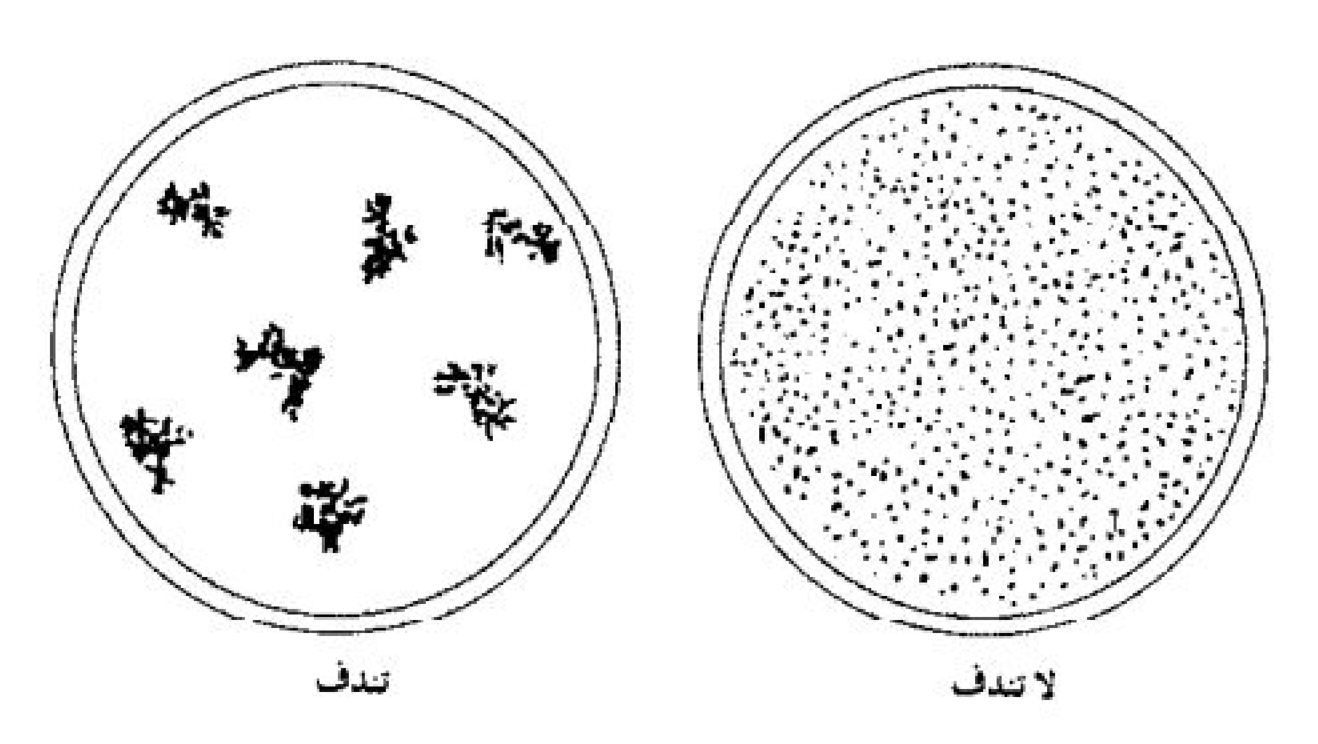
- صفائح اختبار
- ممصات باستور وحيدة الاستعمال
- ممص مصلي
- أنابيب اختبار، 75 مم × 12 مم
- رفرف أنابيب اختبار
- دَوَّارَة rotator
- مستضد RPR
- شواهد سلبية وإيجابية ضعيفة وإيجابية قوية.
- محلول كلوريد الصوديوم 0.85% (الكاشف رقم 53)

عادة ما تزود الكواشف كجزء من عتيدة الاختبار.

الطريقة

1. تُترك عينات المصل وجسيمات مستضد RPR لتصبح بحرارة الغرفة.
2. تُوَزَّع قطرة واحدة من كلٍّ من عينات المصل والشواهد على صفائح الاختبار وتُفرش بعناية في الآبار المستقلة.

1. ملاحظة: يجب حفظ الكواشف لاختبار الراجنة البلازمية السريعة في الثلاجة بدرجة حرارة 2– 6°س



الشكل 22.11. اختبار الراجنة البلازمية السريعة RPR. (تندف:Flocculation)

3. تُضاف قطرة واحدة من مستضد الراجنة البلازمية السريعة RPR إلى كل بئر.
4. توضع صفائح الاختبار على دوارة وتُدَوَّر لمدة 8 دقائق بسرعة 100 دورة/دقيقة. (السرعة الموسى بها هي بين 95 و 105 دورة/دقيقة، ويجب التحقق من ذلك يومياً كجزء من مراقبة الجودة).

إذا لم تتوافر دوارة ميكانيكية تُمال الصفائح إلى الخلف والى الأمام وتُدَوَّر بعناية لمدة 8 دقائق بسرعة 80–85 دورة/دقيقة.

5. تُفحص صفائح الاختبار لتحري التَّنَدُّف (الشكل 22.11) وتُقارَن تفاعلات العينات المصلية مع تفاعلات العينات الشاهدة.
6. يُحضر تخفيف مُضاعَف تسلسلي لأي مصل إيجابي وتُفحص التخفيفات كما تقدم في الخطوات 2–5، ويكون العيار هو التخفيف الأعلى للمصل الذي يعطي تندفاً.

2.10.11 اختبار مقايسة التراص الدموي للولبية الشاحبة TPHA

المواد والكواشف

- أنابيب اختبار
- رفرف أنابيب اختبار
- عتيدة اختبار مقايسة التراص الدموي للولبية الشاحبة TPHA المتوافرة تجارياً والحاوية على صفائح مكروية العيار وممصات مكروية (بروش وحيدة الاستخدام) وماصة مخففة ماسة وكريات حمر محسسة للولبيات ومصول شواهد إيجابية وسلبية.
- ماء مقطر

إن الكواشف والشواهد يجب أن تستنشأ قبل الاستخدام حسب تعليمات المصنع.

الطريقة

1. يحل المصل المفحوص والشاهد بنسبة 1: 20 بالمحل الممتص.
2. باستخدام ممص مكروي، يوَزَّع 25 مكل من مصل الشاهد السلبي في الآبار 1 و2 من الصف الأول الأفقي لصفيحة العيار المكروية (A في الشكل 23.11).
3. يوزع 25 مكل من مصل الشاهد الإيجابي في الآبار 1 و2 من الصف الثاني الأفقي لصفيحة العيار المكروية (B في الشكل 23.11).
4. يوَزَّع 25 مكل من المصل المفحوص في الآبار 1 و2 من الصف الثالث الأفقي لصفيحة العيار المكروية (C في الشكل 23.11). يعاد الإجراء بمصل الاختبار المتبقي. يمكن استخدام الآبار المجاورة إن لزم (مثال 3 و4 في الشكل 23.11)
5. يضاف 75 مكل من الكريات الحمر الشواهد في الآبار من العمود الأول (1) وفي كل عمود من (3، 5، 7، 11) حسب ما يلزم.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	N	S7	S7								
B	P	P	S8	S8								
C	S1	S1	S9	S9								
D	S2	S2	S10	S10								
E	S3	S3	S11	S11								
F	S4	S4	S12	S12								
G	S5	S5	S13	S13								
H	S6	S6	S14	S14								
	CE	AE	CE	AE								

الشكل 23.11. صفيحة الاختبار لاختبار مقايسة التراص الدموي للولبية الشاحبة TPHA

6. يضـاف 75 مكل من الكريات الحمر المحسسـة في الآبار من العمود الأفقي الثاني (2) وفي كل عمود من (4، 6، 8، 10 و12) حسبما يلزم.
7. تدور الصفيحة بعناية وتغطى وتترك لتبلغ حرارة الغرفة لفترة يحددها المصنّع. يجب وقاية الصفائح من الاهتزاز وحرارة الإشعاع وضوء الشمس المباشر.
8. توضـع الصـفيحة بعناية على خلفية بيضـاء أو صفيحة من الزجاج القاسي مضـاءة من الأسفل، أو أداة مشاهدة تسمح برؤية شكل التثفل من الأسفل عبر مرآة.

إذا كانت نتيجة التفاعل إيجابية، فإن الكريات الحمر ستشـكل كتلة خلوية متراصـة ملسـاء. ويمكن أن تحاط الخلايا بحلقة حمراء أو قد تغطي كامل قاعدة البئر. وإذا كانت النتيجة سلبية تظهر حبة حمراء مكتنزة من خلايا غير متراصة، مع أو دون ثقب مركزي صغير جداً.

إذا كانت النتيجة مشكوك بها (حدية) تظهر حبة حمراء من خلايا غير متراصة، مع ثقب مركزي صغير.

ملاحظة: يجب تفسير النتائج حسب المعايير المزودة من قبل المصنّع.

الملحق الكواشف وتحضيرها

الترتيب

لقد تم ترتيب الكواشف أبجدياً؛ وسوف تجد كل كاشف في الحرف المخصص له.

لكل كاشف رقم مكتوب بجانب اسمه وهو الرقم الذي يُرْجَع إليه في متن الكتاب.

بكمية تكفي لـ = مقدار كافٍ للوصول بالمحلول إلى حجم معين،

فمثلاً: كلوريد الصوديوم 8.5 غ

ماء مقطر بكمية تكفى لـ 1000 مل

فهذا يعني:

يوضع 8.5 غ من كلوريد الصوديوم في حوجلة حجمية أو اسطوانة مدرجة، ثم يضاف من الماء مقدار كافٍ (بكمية تكفي لـ) للوصول بالحجم الكلي إلى 1000 مل .

الصيغ الكيميائية

في كثير من الأحيان تُعْطى الصيغة الكيميائية للمركب المستعمل بعد الاسم مباشرةً :

- كلوريد الصوديوم ($NaCl$).
- هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH).
- حمض السلفوريك (H_2SO_4)

الخ...

ولذلك فائدة عند التحقق من اللصاقة الموضوعة على القارورة .

حمض الأسيتيك (حمض الخل)، محلول 50 غ/ل (5%) (رقم 1)

حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH)	20 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 200 مل

تعنون القارورة «محلول حمض الأسيتيك 5%» ويكتب التاريخ.

تحذير: حمض الأسيتيك الثلجي كاوٍ جداً .

حمض الأسيتيك، محلول 100 غ/ل (10%) (رقم 2)

حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH)	20 مل
ماء مقطر	بكميه تكفي لـ 200 مل

تعنون القارورة «محلول حمض الأسيتيك 10%» ويكتب التاريخ.

تحذير: حمض الأسيتيك الثلجي كاوٍ جداً.

حمض الأسيتيك، محلول 500 غ/ل (50%) (رقم 3)

حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH)	100 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 200 مل

تعنون القارورة «محلول حمض الأسيتيك 50%» ويكتب التاريخ
تحذير: حمض الأسيتيك الثلجي كاوٍ جداً.

أسيتون–ايثانول، مزيل لون لتلوين غرام (رقم 4)

اسيتون	200 مل
ايثانول مطلق	475 مل
ماء مقطر	25 مل

يمزج الاسيتون والايثانول في الماء المقطر وينقل إلى قارورة زجاجية ذات سدادة.
تعنون القارورة «مزيل لون اسيتون ايثانول» ويكتب التاريخ.

الإيثانول الحمضي لملون تسيل ـ نلسن (رقم 5)

حمض الهيدروكلوريك (حمض كلور الماء) (HCl) المركز	3مل
إيثانول 95%	97مل

تعنون القارورة « الإيثانول الحمضي لملون تسيل ـ نلسن « ويكتب التاريخ.
تحذير : حمض الهيدروكلوريك كاوٍ جداً.

الكاشف الحمضي (رقم 6)

حمض السلفوريك المركز (H_2SO_4)	44 مل
حمض الأورثوفُسفوريك، 85%	66 مل
سلفات الكادميوم	1.6 مل
ثيوسيميكاربازيد	50 مغ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 500 مل

تملأ حوجلة بسعة 500 مل إلى نصفها بالماء المقطر، ثم يضاف حمض السلفوريك ببطء شديد، مع التحريك دوماً، ثم يضاف بعده حمض الأورثو فسفوريك. يُثابَر على مزج المحلول ويضاف ثيوسيميكاربازيد ثم سلفات الكادميوم، ثم يكمل الحجم إلى 500 مل بالماء المقطر. يُخْتَزَن هذا المحلول في قارورة بنية اللون.
تعنون القارورة «كاشف حمضي» ويكتب التاريخ.
تحذير: حمض السلفوريك كاوٍ جداً.

ملون ألبِرت (رقم 7)

زرقة الطولُويدين	0.15 غ
الخُضْرَة الدُّهْنَجِيَّة	0.20 غ
حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH)	1 مل
الإيثانول 96%	2 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

يذاب حمض الأسيتيك الثلجي في 30 مل من الماء المقطر في قارورة نظيفة سعة 100 مل، ثم تضاف زرقة الطولويدين وخضرة المالاشيت، ويمزج جيداً. يضاف الإيثانول ويكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر، ويمزج جيداً. تعنون القارورة «ملون ألبرت» ويكتب التاريخ. تُخْتَزَن في حرارة الغرفة.
تحذير: حمض الأستيك الثلجي كاوٍ بشدة.

كاشف هيماتين د القلوي (رقم 8)

هيدروكسيد الصوديوم	4 غ
تريتون 100 – X (أو ما يعادله)	25 غ
ماء مقطر	1000مل

يحل هيدروكسيد الصوديوم في الماء المقطر في حوجلة مخروطية نظيفة ويحرك بعصي زجاجية حتى تدوب كامل البلورات . يضاف تريتون 100 X – (أو ما يعادله) ويمزج جيداً . يرشح المحلول إلى قارورة نظيفة ذات سدادة زجاجية باستخدام ورق ترشيح واتمان رقم 1 (أو ما يعادله). تعنون الزجاجة «كاشف هيماتين د القلوي» ويكتب التاريخ . تحفظ في حرارة الغرفة (20–25 س). تفحص نوعية المحلول (انظر أدناه)

إن كاشف الهيماتين د القلوي (AHD) يحفظ عدة أشهر في حرارة 20–25 س .إذا ظهرت ترسبات أثناء التخزين يجب ترشيحه قبل الاستعمال .

ملاحظة : يستخدم ماء مطر مرشح إذا لم يتوفر ماء مقطر .

مراقبة جودة كاشف هيماتين د القلوي:

إن محلول هيماتين د القلوي AHD المعياري يزود من قبل مختبر مركزي لفحص نوعية المحضرات الجديدة للكاشف في المختبرات المحيطية .

1. يملأ كفيت بالماء المقطر ويوضع في حجيرة الكفيت .يضبط مقياس الهيموغلوبين أوالمقياس اللوني على الرقم 0 بطول موجة 540 نم .
2. يستبدل الماء المقطر بكاشف هيماتين د القلوي AHD . يجب قراءة رقم الصفر (0) في المقياسين .
3. يمص 20 مكل من هيماتين د القلوي AHD المعياري إلى أنبوب الاختبار الحاوي 3 مل من كاشف هيماتين د القلوي AHD الطازج (تخفيف 150:1) .
4. يقاس تركيز الهيموغلوبين لهيماتين د العلوي AHD المعياري (الفقرة 2.3.9) .
5. يعاد الإجراء باستعمال كاشف هيماتين د القلوي AHD المعد . تقارن النتائج.
6. إذا اختلفت قيم الهيموغلوبين لأكثر من 5غم/ل ، يتم التخلص من كاشف هيماتين د القلوي AHD المعد ويعد غيره مع الانتباه إلى القياس الدقيق للمواد ونظافة الأوعية الزجاجية .

إن محلول هماتين د القلوى AHD المعيارى الخزين يحفظ لثمانية أشهر بحرارة 4–8 س .

وسط (مستنبت) أميز للنقل (رقم 9)

فحم بدرجة صيدلانية	10.0 غ
كلوريد الصوديوم (NaCl)	3.00 غ
فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم ($Na_2HPO_4 2H_2O$)	1.15 غ
فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4)	0.20 غ
ثيوغليكولات الصوديوم	0.10 غ
كلوريد الكالسيوم (CaCl2)(1%)، محلول مائي طازج	0.10 غ
كلوريد المغنزيوم (CaCl2)(1%)، محلول مائي	0.10 غ
أغار	4.00 غ
ماء مقطر	1000 مل

يعلق مزيج الأملاح في الماء المقطر ويضاف الأغار ويُسخن حتى الذوبان ثم يضاف الفحم. يُوَزّع الوسط بمقادير صغيرة في أنابيب أو قوارير. ويحرك اثناء ذلك لكي يتوزع الفحم بشكل منتظم ومتجانس.

يُعَقّم في الموصدة بدرجة 120° س مدة 15 دقيقة ثم توضع في ماء بارد ليبقى الفحم معلقاً.

تعنون الأنابيب والقوارير «وسط أميز للنقل» ويكتب عليه التاريخ.

محلول بنيديكْت (رقم 10)

سلفات النحاس (CuSO4.5H2O)	17.3 غ
سيترات ثلاثية الصوديوم (Na3C6H5O7.2H2O)	173.0 غ
كربونات الصوديوم (Na2CO3) اللامائية	100.0 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تذاب بلورات سلفات النحاس بالتسخين في 100 مل من الماء المقطر.

ثم تذاب السترات الثلاثية الصوديوم وكربونات الصوديوم في حوالي 800 مل من الماء. يضاف محلول سلفات النحاس ببطء إلى محلول كربونات الصوديوم والسيترات الثلاثية الصوديوم مع التحريك باستمرار.

يكمل المزيج إلى 1000 مل بالماء المقطر. ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية.

تعنون الزجاجة «محلول بنيديكت» ويكتب التاريخ.

الكاشف الكفيء blank reagent (رقم 11)

محلول حمض ثلاثي كلورأسيتيك (CCl_3 COOH)، 50 غ/ل (5%)	50 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

يمزج.

ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «كاشف كفيء» ويكتب التاريخ. تحفظ في حرارة الغرفة (20–25° س) ويمكن تخزينه عدة أشهر

تحذير: حمض ثلاثي كلورأسيتيك كاوٍ جداً.

حمض البوريك، محلول مُشْبَع (رقم 12)

حمض البوريك	4.8 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

يحفظ في قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «محلول حمض البوريك المشبع» ويكتب التاريخ.

زُرْقَة الكريزيل اللامعة (رقم 13)

زرقة الكريزيل اللامعة	1.0 غ
سيترات ثلاثية الصوديوم (Na3C6H5O7.2H2O)	0.4 غ
محلول كلوريد الصوديوم (NaCl) 8.5 غ/ل 0.85% (رقم 53)	100 مل

يذاب الصبغ والسيترات الثلاثية الصوديوم معاً في محلول كلوريد الصوديوم. ثم يرشح المحلول الناتج إلى قارورة التلوين. تعنون القارورة « زرقة الكريزيل اللامعة» ويكتب التاريخ

المحلول الملحي الغليسيرولي المدروء (رقم 14)

كلوريد الصوديوم (NaCl)	4.2 غ
فوسفات الهيدروجين ثنائية البوتاسيوم اللامائية (K_2HPO_4)،	3.1 غ
فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	1 غ
أحمر الفينول	0.003 غ
ماء مقطر (أو مرشح ومغلي)	بكمية تكفي لـ 700 مل
غليسيرول صرف	300 مل

الباهاء pH النهائي= 7.2

يوزع المحلول في قوارير صغيرة فيها فراغ 2 سم بين أعلى المادة وأعلى القارورة. تعنون القارورة «المحلول الملحي الغليسيرولي المدروء» ويكتب التاريخ.

الماء المدروء، باهاء pH 7.2 (رقم 15)

محلول دارئ لملونات ماي ـ غرونفالد وغيمزا وليشمان

فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم ($Na_2HPO_4.2H_2O$)	3.8 غ
فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4) اللامائية	2.1 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تُذاب الأملاح في الماء المقطر، وتُحرَّك جيداً. يتم التحقق من الباهاء pH باستعمال أوراق الباهاء الضيقة المجال فينبغي أن تكون الباهاء 7.0–7.2 .

ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «ماء مدروء» ويكتب التاريخ.

الكربول فوكسين لتلوين تسيل ـ نلسن (رقم 16)

المحلول آ (محلول مشبع للفوكسين الأساسي):

فوكسين أساسي	3 غ
إيثانول (CH_3 CH_2OH)، 95%	100مل

المحلول ب (محلول الفينول المائي، 50 غ/ل (5%)):

فينول (C_6H_5OH)	10 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 200مل

يمزج 10 مل من محلول آ مع 90 مل من محلول ب.

ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «محلول الكربول فوكسين» ويكتب التاريخ.

تحذير: هذا المحلول كاوٍ جداً وسام.

وسط (مستنبت) كاري –بلير للنقل (رقم 17)

ثيوغليكولات الصوديوم	1.5 غ
فسفات الهدروجين الثنائية الصوديوم (Na_2HPO_4) اللامائية	1.1 غ
كلوريد الصوديوم ($NaCl$)	5.0 غ
أغار	5.0 غ
ماء مقطر	991.0 مل

يوضع في دورق نظيف سعة 1000 مل الأملاح والماء المقطر. يسخن في أثناء المزج حتى يصبح المحلول رائقاً. يُبَرَّد حتى الدرجة 50 س، ثم يضاف 9 مل من محلول كلوريد الكالسيوم ($CaCl_2$) المائي 10 غ/ل (1%) المحضر طازجاً، وتُضبط الباهاء إلى حوالي 8.4 .

يوزع المحلول بمقدار 7 مل في قناني ملولبة الغطاء بسعة 9مل مغسولة ومعقمة مسبقاً. تُعَرَّض القناني المحتوية على المستنبت إلى البخار مدة 15 دقيقة، ثم تُبَرَّد وتحكم أغطيتها.

تعنون القناني «وسط كاري ـ بلير للنقل» ويكتب عليه التاريخ.

بنفسجيّة الكريزيل، هَكَر المُعَدَّل (رقم 18)

المحلول آ:

بنفسجية الكريزيل	2 غ
إيثانول 95%	20 مل

المحلول ب:

أوكسالات الأمونيوم [($(HN_4)_2CO_4$،H_2O)]	0.8 غ
ماء مقطر	80.0 مل

يمزج المحلولان (آ) و(ب)، ويختزن 24 ساعة قبل الاستعمال. يرشح من خلال ورق الترشيح إلى قارورة التلوين.
تعنون القارورة « بَنَفسَجيَّة الكريزيل، هَكَر المُعَدَّل» ويكتب التاريخ.

ملون هيماتوكسيلين ديلافيلد (رقم 19)

هيماتوكسيلين	4 غ
شب الأمونيوم	8 غ
بيرمنغنات البوتاسيوم	2 غ
ايثانول مطلق	125 مل
ماء مقطر	410 مل

يسخن الايثانول في دورق على ماء ساخن. يضاف الهيماتوكسيلين ويحرك ليذوب. يبرد المحلول.
يضاف شب الأمونيوم إلى 400 مل ماء مقطر (سخن إلى 40 س) ويحرك ليذوب، ثم يضاف إلى محلول الهيماتوكسيلين بعد ترشيح الأخير.
تذاب بيرمنغنات البوتاسيوم في 10 مل ماء مقطر وتضاف إلى محلول الملون، وتمزج. ينقل المحلول إلى قارورة التلوين. تعنون القارورة «ملون هيماتوكسيلين ديلافيلد» ويكتب التاريخ.
يحفظ الملون عدة أشهر في درجة حرارة 20–25 س.

ثنائي الكرومات المُنَظِّف، محلول (رقم 20)

لتنظيف الزجاجيات.

ثنائي كرومات البوتاسيوم ($K_2Cr_2O_7$)	100 غ
حمض السلفوريك النقي (H_2SO_4)	100 مل
ماء مقطر	1000 مل

يذاب ثنائي الكرومات في الماء ثم يضاف الحمض شيئاً فشيئاً ومع التحريك المستمر، وينبغي دائماً أن يضاف الحمض إلى الماء ولا يجوز أن يضاف الماء فوق الحمض. ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية.
تعنون القارورة «محلول ثنائي الكرومات للتنظيف» ويكتب التاريخ.
تحذير: لما كان ثنائي كرومات البوتاسيوم وحمض السلفوريك كاويين ومزيجهما مثل ذلك وأكثر، لذا ينبغي تجنب استعمال هذا المحلول ما أمكن.

سائل تخفيف درابكين Drabkin (رقم 21)

يمكن أن يحضر سائل تخفيف درابكين من أقراص هذا الكاشف التي تُشترى مباشرة من مصانعها، وتطبق إذ ذاك تعليمات المصنع.
أما في المختبرات المجهزة بميزان مضبوط فإن سائل تخفيف درابكين يمكن أن يحضر كما يلي:

فِرّي سيانيد البوتاسيوم [$K_3Fe(CN)_6$]	0.4 غ
سيانيد البوتاسيوم (KCN)	0.1 غ
فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4)	0.28 غ
تيلوكسابول Tyloxapol	1 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 2000 مل

تذاب الكيماويات الثلاثة الأولى بالماء وتمزج، ثم يضاف منظف التيلوكسابول ويمزج بلطف. ينبغي أن يكون الكاشف رائقاً وبلون أصفر شاحب، وعندما يقاس هذا المحلول تجاه الماء كَكَفيء في مقياس طيفي ضوئي بطول موجة 540 نم فينبغي أن يكون التَّمَاصّ (الكثافة البصرية) صفراً. يُختزن الكاشف في قارورة بنيه اللون.
تعنون القارورة «سائل تخفيف درابكين» ويكتب التاريخ. يُرمى المحلول إذا أصبح عكراً.

تحذير: إن سيانيد البوتاسيوم سام جداً وينبغي أن يستعمل من قبل الكيميائيين الخبراء، وعندما يكون خارج الاستعمال فينبغي أن يحفظ في خزانة مقفولة. وبعد استعمال هذه المادة الكيميائية للتحضير ينبغي غسل اليدين جيداً جداً.

ملح ثنائي البوتاسيوم للإيديتات EDTA، محلول 100 غ/ل(10%) (رقم 22)

إيثيلين ديامين تترا-أسيتات ثنائية البوتاسيوم (إيديتات البوتاسيوم)	20 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 200 مل

للاستعمال يُمَصّ 0.04 مل من هذا المحلول في أواني صغيرة معلمة لتستوعب 2.5 مل من الدم، ويترك مضاد التخثر هذا ليجف وذلك بترك الأواني طول الليل على رف ساخن أو في الحاضنة بدرجة 37 م.

يوزين، محلول 10 غ/ل (1%) (رقم 23)

يوزين	1 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100مل

تعنون القارورة «محلول اليوزين 1%» ويكتب التاريخ.

يوزين، محلول ملحي 20غ/ل (2%) (رقم24)

يوزين	2 غ
محلول مائي لكلوريد الصوديوم 8.5، (NaCl) غ/ل (0.85%) (رقم 53)	بكمية تكفي لـ 100مل

تعنون القارورة «محلول اليوزين الملحي 2%» ويكتب التاريخ.

ملون فيلد (رقم 25)

ملون فيلد آ

تحضيره من المساحيق الجاهزة :

مسحوق ملون فيلد آ	5.0 غ
ماء مقطر مسخن إلى درجة 80 س	بكمية تكفي لـ 600 مل

يمزج حتى يذوب ويرشح عندما يبرد.
تعنون القارورة «ملون فيلد» ويكتب التاريخ.

تحضيره من الملونات والكيماويات الأصلية :

زرقة الميثيلين (الطبية)	1.6 غ
آزور I	1.0 غ
فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم (Na_2HPO_4) اللامائية	10.0 غ
فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4) اللامائية	12.5 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

يذاب ملحا الفسفات في الماء ويصب حوالي نصف المحلول الفسفاتي في قارورة بسعة لتر تحتوي على بضع لآلي (خرزات) زجاجية. تضاف المساحيق الملونة وتمزج جيداً ثم يضاف ما تبقى من محلول الفسفات. يمزج جيداً ويرشح.
تعنون القارورة «ملون فيلد أ» ويكتب التاريخ.

ملون فيلد ب

تحضيره من المساحيق الجاهزة:

مسحوق ملون فيلد ب	4.8 غ
ماء مقطر مسخن إلى درجة 80 س	بكمية تكفي لـ 600 مل

يمزج حتى الذوبان ويرشح عندما يبرد.

التحضير من الملونات والكيماويات الأصلية:

يوزين (أصفر ذواب في الماء)	2.0 غ
فسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم (Na_2HPO_4) اللامائية	10.0 غ
فسفات البوتاسيوم الثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4) اللامائية	12.5 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000مل

يذاب ملحا الفسفات في الماء ثم يصب في قارورة سعتها لتر. يضاف اليوزين ثم يمزج حتى الذوبان، ويرشح الملون في قارورة سعة 1000 مل. تعنون القارورة «ملون فيلد ب» ويكتب التاريخ.

يمكن استخدام ملون فيلد غير المخفف طالما يعطي نتائج جيدة. بعد التخفيف، يجب ترشيحه كل 2–3 أيام.

الأوكسالات الفلوريدية المضادة للتخثر (رقم 26)

فلوريد الصوديوم (NaF)	1.2 غ
أوكسالات البوتاسيوم (KCOOH)	6.0 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

للاستعمال يمص 0.1 مل من مضاد التخثر وينقل إلى أواني صغيرة معلمة لتستوعب 2 مل من الدم أو السائل النخاعي (الدماغي الشوكي).

تحذير: كِلا فلوريد الصوديوم وأوكسالات البوتاسيوم مادة سامة.

الفورمالدهيد الملحي، محلول (رقم 27)

محلول الفورمالدهيد المتعادل التجاري، 37% على الأقل (فورمالين)	10 مل
محلول كلوريد الصوديوم (NaCl) 8.5 غ/ل، 0.85% (رقم 53)	90 مل

يُستَعْدَل محلول الفورمالدهيد التجاري بإضافة بضع قطرات من محلول كربونات الصوديوم 50 غ/ل (5%) (الكاشف رقم 52). يُختبر بواسطة ورق الباهاء pH المشعر.

تعنون القارورة «فورمالدهيد ملحي» ويكتب التاريخ.

تحذير: الفورمالدهيد كاوٍ وسام.

فورمالدهيد، محلول 10% (رقم 28)

محلول الفورمالدهيد التجاري37 ، CH_2O% على الأقل (فورمالين)	100 مل
ماء مقطر	300 مل

تعنون القارورة «محلول الفورمالدهيد 10%» ويكتب التاريخ.

تحذير: الفورمالدهيد كاوٍ وسام.

ملون غيمزا (رقم 29)

مسحوق ملون غيمزا	0.75 غ
ميثانول (CH_3OH)	65 مل
غليسيرول ($C_3H_8O_3$)	35 مل

توضع هذه المكونات في قارورة تحتوي لآلئ أو خرزات زجاجية وتُخَضْخَض، ثم تُخَضّ القارورة ثلاث مرات يومياً خلال أربعة أيام متوالية، ثم ترشح.

تعنون القارورة «ملون غيمزا» ويكتب التاريخ.

كواشف الغلوكوز (رقم 30)

محلول حمض ثلاثي كلور أسيتيك 30 غ/ل (3%)

حمض ثلاثي كلور أسيتيك (CCl3COOH) — 15 غ

ماء مقطر — بكمية تكفي لـ 500 مل

يوزن الحمض بسرعه لأنه ميوع، وينقل إلى دورق، ثم يضاف الماء لإذابته؛ وينقل بعد ذلك إلى حوجلة بسعة 500 مل ويكمل إلى العلامة بالماء المقطر. يُحْفَظ في الثلاجة.

تعنون القارورة « حمض ثلاثي كلور أسيتيك 3%» ويكتب التاريخ.

تحذير: حمض ثلاثي كلور أسيتيك كاوٍ جداً.

كاشف أورثوطولويدين

ثيويوريا — 0.75 غ

حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH) — 470 مل

أورثوطولويدين — 30 مل

تذاب الثيويوريا في حمض الأسيتيك الثلجي (فإذا كانت الإذابة صعبة توضع الحوجلة في حمام ماء ساخن)، ثم يضاف الأورتوطولويدين ويمزج جيداً. ثم يُختَزن في قارورة بنية تحفظ في حرارة الغرفة.

تعنون القارورة « كاشف أورثوطولويدين» ويكتب التاريخ.

تحذير: حمض الأسيتيك الثلجي كاوٍ جداً.

محلول حمض البَنْزَويك 1غ/ل (0.1%)

حمض البنزويك — 1 غ

ماء مقطر — بكمية تكفي لـ 1000 مل

تؤخذ كمية 1000 مل من الماء المقطر وتسخن حتى قرب الغليان، ثم يضاف حمض البنزويك ويمزج جيداً إلى أن يذوب. ثم يُتْرَك ليبرد. ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية، سعة 1000 مل

تعنون القارورة «محلول حمض البنزويك 1%» ويكتب التاريخ.

محلول الغلوكوز المرجعي الخزين (100 ممول/ ل)

غلوكوز، نقي، لامائي — 9 غ

محلول حمض البنزويك 1 غ/ل (0.1%) — بكمية تكفي لـ 500 مل

يوزن الغلوكوز بدقة بالغة، وينقل إلى حوجلة حجمية سعة 500 مل، ثم يكمل إلى العلامة بمحلول حمض البنزويك. يمزج جيداً.

تعنون القارورة « محلول الغلوكوز المرجعي الخزين 100 ممول/ ل» ويكتب التاريخ.

يُجَمَّد بكميات مقدارها حوالي 100 مل. تستعمل قارورة جديدة من المحلول المرجعي الخزين المجمد كلما أريد تحضير محلول مرجعي شَغَّال.

محلول الغلوكوز المرجعي للعمل (2.5، 5، 10، 20، 25 ممول/ل)

يترك المحلول الخزين للغلوكوز ليصل إلى حرارة الغرفة. يمص مقادير 2.5، 5، 10، 20، 25 ملم منه في كل من 5 حوجلات حجمية سعة 100 مل. يضاف حمض البنزويك حتى العلامة ويمزج جيداً.

تعنون القارورة «محلول الغلوكوز المرجعي للعمل 100 ممول/ ل» ويكتب التاريخ، يتم التخزين في الثلاجة ويجدد شهرياً.

خضرة غليسيرول-مالاشيت، محلول (رقم 31)

1 – يحضر المحلول الخزين من خضرة مالاشيت، محلول 1%

خضرة مالاشيت — 1 غ

ماء مقطر — 100 مل

تسحق بلورات خضرة المالاشيت إلى بودرة. يحل 1 غ من البودرة الطازجة في 100 مل من الماء المقطر، ويسكب في قارورة عاتمة تعنون« محلول خضرة مالاشيت 1%»ويكتب التاريخ. تغلق القارورة جيدا وتحفظ في الظلام.

2 – يحضر محلول العمل كما يلي:

غليسيرول	100 مل
محلول خضرة مالاشيت 1%	1 مل
ماء مقطر	100 مل

توضع المواد المذكورة في قارورة ذات سدادة زجاجية سعة 250 مل.

تعنون«محلول خضرة مالاشيت» ويكتب التاريخ. تمزج بلطف عند الاستعمال.

حمض الهيدروكلوريك 0.1 مول/ل (رقم 32)

حمض الهيدروكلوريك المركز (HCl)	8.6 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000مل

يوضع 500 مل من الماء المقطر في حوجلة حجمية ذات سدادة زجاجية سعتها لتر حوالي 1000 مل ثم يضاف الحمض قطرةً قطرة ثم يكمل إلى اللتر بقية الماء المقطر.

تعنون القارورة «محلول حمض الهيدروكلوريك 0.01 مول/ل» ويكتب التاريخ، ويجدد شهرياً.

تحذير : حمض الهيدروكلوريك كاوٍ جداً.

محلول إسوي التوتر الملحي

انظر كلوريد الصوديوم

محلول الإرساء باللاكتوفينول وزرقة القطن (رقم 33)

زرقة القطن (زرقة الأنيلين)	50 مغ
بلورات الفينول	20 مغ
حمض اللاكتيك	20 مل
غليسيرول	40 مل
ماء مقطر	20 مل

يضاف الفينول وحمض اللاكتيك والغليسيرول إلى الماء المقطر، وتُمزج وتذاب بالتسخين بلطف. تُضاف زرقة القطن وتمزج. ينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «محلول الإرساء باللاكتوفينول وزرقة القطن» ويكتب عليها التاريخ.

تحذير: الفينول كاوٍ جداً وسام.

ملون ليشمان (رقم 34)

مسحوق ليشمان	1.5 غ
ميثانول	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تشطف قارورة نظيفة بالميثانول، ويوضع فيها بضعة لآلئ أو خرزات جافة نظيفة. ثم يضاف المسحوق المُلَوِّن والميثانول، ويمزج جيداً لإذابة الملون.

تعنون القارورة «ملون ليشمان» ويكتب التاريخ.

يكون الملون جاهزاً للاستعمال في اليوم التالي. ومن المهم عدم دخول أية رطوبة إلى الملون في أثناء تحضيره أو تخزينه.

زرقة الميثيلين بحسب لوفلر (رقم 35)

زرقة الميثيلين	0.5 غ
الإيثانول 99.6%	30 مل
محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) 200 غ/ل ، 20% (محلول رقم 45)	0.1 مل

ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تذاب زرقة الميثيلين في 30 مل من الماء المقطر وينقل المحلول إلى قارورة بنية نظيفة، ثم يضاف هيدروكسيد البوتاسيوم والإيثانول وبقية الماء المقطر، ويمزج جيداً. تعنون القارورة «محلول زرقة الميثيلين» ويكتب التاريخ. تختزن في مكان مظلم في حرارة الغرفة (20–25° س).

لوغول اليودي، محلول 1 غ/ ل (0.1%) (رقم 36)

يود	1 غ
يود البوتاسيوم (KI)	2 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 300 مل

يُسْحَق اليود الجاف مع يوديد البوتاسيوم في هاون، ثم يضاف الماء المقطر بمقدار بضعة ميليلترات كل مرة ويُسحق جيداً بعد كل إضافة إلى أن يذوب اليود واليوديد. وبعد ذلك يُشطف المحلول ويُنْقَل إلى قارورة زجاجية معتمة بما تبقى من الماء المقطر.

ويمكن بدلاً من ذلك أن يوضع 300 مل من الماء المقطر في اسطوانة، ويُذاب يوديد البوتاسيوم أولاً في حوالي 30 مل من الماء، ثم يضاف اليود ويُمْزَج حتى يذوب. ثم تضاف بقية الماء ويمزج جيداً. يختزن في قارورة بنية.

تعنون القارورة « محلول لوغول اليودي 0.1%» ويكتب التاريخ.

لوغول اليودي، محلول 5 غ/ ل (0.5%) (رقم 37)

يود	5 غ
يود البوتاسيوم (KI)	10 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 300 مل

يُسْحَق اليود الجاف مع يوديد البوتاسيوم في هاون، ثم يضاف الماء المقطر بمقدار بضعة ميليلترات كل مرة ويُسحق جيداً بعد كل إضافة إلى أن يذوب اليود واليوديد. وبعد ذلك يُشطف المحلول ويُنْقَل إلى قارورة زجاجية معتمة بما بقي من الماء المقطر.

ويمكن بدلاً من ذلك أن يوضع 300 مل من الماء المقطر في اسطوانة، ويُذاب يوديد البوتاسيوم أولاً في حوالي 30 مل من الماء، ثم يضاف اليود ويُمْزَج حتى يذوب. ثم تضاف بقية الماء ويمزج جيداً. يختزن في قارورة بنية.

تعنون القارورة « محلول لوغول اليودي 0.5%» ويكتب التاريخ.

ملون ماي ـ غرونفالد (رقم 38)

مسحوق ماي ـ غرونفالد	5 غ
ميثانول	بكمية تكفي لـ 1000مل

تُشطف قارورة نظيفة بالميثانول، ويوضع فيها بضعة لآلئ أو خرزات جافة نظيفة. ثم يضاف المسحوق المُلوّن والميثانول، ويمزج جيداً لإذابة الملون.

تعنون القارورة «ملون ماي ـ غرونفالد» ويكتب عليها التاريخ.

يُحَسَّن الملون بحفظه أسبوع ـ أسبوعين مع مزجه بفواصل زمنية. ومن المهم عدم دخول أية رطوبة إلى الملون في أثناء تحضيره أو تخزينه.

زرقة الميثيلين، المحلول المائي (رقم 39)

زرقة الميثيلين	0.3 غ
ماء مقطر	100 مل

تذاب زرقة الميثيلين في الماء المقطر ثم يرشح المحلول وينقل إلى قارورة بنية نظيفة.
تعنون القارورة «محلول زرقة الميثيلين» ويكتب التاريخ.

الحُمْرَة المُتعادِلَة، محلول 1 غ/ل (0.1%) (رقم 40)

الحمرة المتعادلة	1 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تذاب الحمرة المتعادلة في نحو 300 مل من الماء المقطر في قارورة نظيفة سعة 1000 مل، ثم يكمل الحجم إلى 1000 مل بالماء المقطر ويمزج جيداً. تعنون القارورة «محلول الحمرة المتعادلة 0.1 %» ويكتب التاريخ.
تختزن في حرارة الغرفة.

كاشف باندي (رقم 41)

الفينول	30 غ
ماء مقطر	500مل

يوضع الفينول في قارورة سعة 1000مل، ثم يضاف الماء، ويُخَضّ بشدة. تعنون القارورة «كاشف باندي» ويكتب عليه التاريخ. وبعد أن يُتْرَك ليرقد يوماً كاملاً يُتحَقَّق من بقاء أي شيء من الفينول غير ذائب، فإذا كان كذلك يُرَشَّح المحلول (وإذا ذاب كل الفينول تضاف 10 غ أخرى منه ويُنْتَظَر مدة يوم آخر قبل الترشيح).
(إن كاشف ـ باندي هو محلول مشبع للفينول).
تحذير: الفينول كاوٍ جداً وسام.

حمرة الفينول، محلول 10 غ/ل (1%) (رقم 42)

بلورات حمرة الفينول	0.1 غ
ماء مقطر	10 مل

يتم وزن بلورات حمرة الفينول في دورق سعة 20 مل، ويضاف الماء المقطر ويحرك حتى ذوبان البلورات.
ينقل المحلول إلى قارورة بلاستيكية للتنقيط.
تعنون القارورة «محلول حمرة الفينول 1%» ويكتب التاريخ.
تختزن في حرارة الغرفة (20–25° س)

دارئة الفُسْفات 0.01 مول/ل ، باهاء 6.8 (رقم 43)

1. يحضر محلول خزين من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين اللامائية في حوجلة حجمية سعتها 1000 مل

فسفات الصوديوم الثنائية الهيدروجين (NaH_2PO_4.)	13.6 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

يعقم المحلول الخزين بالترشيح بمرشحة 0.2 مكم . إذا لم يتوفر فسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين يمكن تحضير المحلول بإذابة 17.2 غ من فسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين المائية في 1000 مل من ماء مقطر . تعنون الحوجلة الحجمية «فسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين اللامائية» ويكتب التاريخ .
يحفظ المحلول الخزين في الثلاجة .

2. يحضر محلول خزين من فسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم في حوجلة حجمية سعتها 1000 مل.

فُسفات الهيدروجين الثنائية الصوديوم ($Na_2HPO_4.2H_2O$)	17.8 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

يعقم المحلول الخزين بالترشيح بمرشحة 0.2 مكم . إذا لم يتوفر فسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم يمكن تحضير المحلول بإذابة 26.8 غ من فسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم المائية في 1000 مل من ماء مقطر. تعنون الحوجلة الحجمية «محلول خزين فسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم» ويكتب التاريخ،

ويحفظ المحلول في الثلاجة .

3 . يمزج المحلولان الخزينان في مقادير مبينة في الجدول التالي للحصول على 100 مل من الماء المدروء. يجب أن نبين الباهاء كما هو في الجدول . إذا كانت الباهاء منخفضة جداً تضبط بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 0.01 مول/ل (رقم54) وإذا كانت مرتفعة جداً تضبط بمحلول حمض الهيدروكلوريك 0.01 مول/ل (رقم 32)

محلول الباهاء للعمل	حجم المحلول الخزين(مل)	
	NaH2PO4	Na2HPO42H2O
6.4	83.2	16.8
6.5	75.0	25.0
6.8	50.8	49.2
6.9	43.9	56.1
7.0	39.0	61.0
7.2	28.0	72.0
7.4	19.9	81.0
7.6	13.0	87.0
7.8	8.5	91.5
8.0	5.3	94.7

مثبت كحول بولي فنيل PVA (رقم 44)

ملاحظة : يحضر في مختبر وسيط لوجود مواد خطرة.

مثبت شودن المعدل

بلورات كلوريد الميركوريك (الزئبق)	1.5 غ
ايثانول 95%	31 مل
حمض الأستيك الثلجي	5.0 مل

يحل كلوريد الميركوريك في الايثانول في حوجلة مغلقة (50 أو 125 مل). يضاف حمض الأستيك الثلجي، تغلق الحوجلة ويمزج بالتدوير. تعنون الحوجلة «مثبت شوندن المعدل» ويكتب عليها التاريخ.

تحذير: كلوريد الميركوريك سام. حمض الخل الثلجي كاو.

مزيج كحول بولي فنيل PVA

غليسيرول	1.5 مل
بودرة كحول بولي فنيل PVA (لزوجية منخفضة)	5 غ
ماء مقطر	52.2 مل.

يضاف في دورق صغير الغليسيرول وبودرة كحول بولي فنيل PVA وتمزج جيدا بعود زجاجي حتى تغلف كافة الجزيئات بالغليسيرول.

يوضع المزيج في حوجلة سعة 125 مل. يضاف الماء المقطر وتسد وتترك في حرارة الغرفة مدة 3 ساعات أو طوال الليل. تعنون الحوجلة «مزيج كحول بولي فنيل PVA» ويكتب عليه التاريخ. يدور المزيج من وقت لآخر ليتم المزج.

إن بودرة ومحلول مزيج كحول بولي فنيل PVA متوافران في التجارة. وتوجد عدة درجات للبودرة ولكن تفضل الدرجات عالية الهدرجة واللزوجية المتوسطة والمنخفضة لتحضير المثبت.

محلول العمل لمثبت كحول بولي فنيل PVA

1. يسخن حمام مائي إلى 70–75 س. وتضبط الحرارة.
2. توضع الحوجلة المنحلة الغطاء الحاوية على مزيج كحول بولي فنيل PVA حوالي 10 دقائق في الحمام المائي وتدور تكرارا.
3. عندما تصبح غالبية برودة كحول بولي فنيل PVA منحلة يسكب مثبت شوندن المعدل ويعاد الإغلاق والتدوير.
4. يتابع تدوير المزيج لـ 2–3 دقائق لحل باقي كحول بولي فنيل PVA وللتخلص من الفقاعات وليصبح المحلول رائقاً.
5. ترفع الحوجلة من الحمام المائي وتترك لتبرد. يخزن المثبت في قارورة ذات سدادة زجاجية أو غطاء لولبي.

تعنون القارورة«مثبت كحول بولي فنيل PVA» ويكتب التاريخ. تحفظ لمدة 6–12 شهراً.

هيدروكسيد البوتاسيوم، محلول 200 غ/ل (20%) (رقم 45)

حبيبات هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH)	20 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تعنون الحوجلة الحجمية «محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 20%» ويكتب عليه التاريخ.

تحذير: هيدروكسيد البوتاسيوم كاوٍ.

برمنغنات البوتاسيوم، محلول 40 غ/لتر (4%) (رقم 46)

برمنغنات البوتاسيوم	40 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تحل برمنغنات البوتاسيوم في 300 مل من الماء المقطر، في حوجلة حجمية سعة 1000مل. يزاد الماء المقطر حتى 1000مل. تعنون الحوجلة الحجمية «محلول برمنغنات البوتاسيوم 4%» ويكتب التاريخ.

السافرانين (الزعفرانين)، محلول (رقم 47)

يحضر المحلول الخزين:

سافرانين O (مُوَثَّق)	2.5 غ
إيتانول 95%	بكمية تكفي لـ 100 مل

يمزج حتى ينحل السافرانين، وينقل المحلول إلى قارورة ذات سدادة زجاجية. تعنون القارورة «محلول السافرانين الخزين» ويكتب التاريخ

يحضر محلول العمل:

محلول خزين	10 مل
ماء مقطر	90 مل

تعنون القارورة «محلول السافرانين للعمل» ويكتب التاريخ. تخزن في مكان مظلم.

الصابونين، محلول 10 غ/ل (رقم 48)

صابونين	1 غ
كلوريد الصوديوم، محلول 8.5 غ/ل (0.85%) (رقم 53)	100 مل

يضاف محلول كلوريد الصوديم في قارورة زجاجية. ويضاف الصابونين أيضاً، ويمزج، ويسخن حتى الذوبان التام.

تعنون القارورة «صابونين في محلول ملحي 1%» ويكتب التاريخ.

نترات الفضة، محلول 17 غ/ل (1.7%) (رقم 49)

نترات الفضة ($AgNO_3$)	5.1 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 300 مل

يمزج حتى تنحل نترات الفضة . تعنون القارورة «محلول نترات الفضة 1.7 % » ويكتب عليه التاريخ.

تحذير: نترات الفضة كاوية.

بيكربونات الصوديوم، محلول 20 غ/ل (2%) (رقم 50)

بيكربونات الصوديوم ($NaHCO_3$)	2 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تعنون الحوجلة الحجمية « محلول بيكربونات الصوديوم 2%» ويكتب التاريخ.

كربونات الصوديوم، محلول 2 غ/ل (0.2%) (رقم 51)

كربونات الصوديوم اللامائية (أو مادة معادلة من أحد الهيدرات)	2 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تعنون القارورة « محلول كربونات الصوديوم 0.2%» ويكتب التاريخ.

كربونات الصوديوم، محلول 50 غ/ل (5%) (رقم 52)

كربونات الصوديوم اللامائية (أو مادة معادلة من أحد الهيدرات)	5 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تعنون القارورة « محلول كربونات الصوديوم 5%» ويكتب التاريخ.

كلوريد الصوديوم، محلول 8.5 غ/ل (0.85%) (المحلول الملحي الإسوي التوتر) (رقم 53)

كلوريد الصوديوم (NaCl)	8.5 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 1000 مل

تعنون القارورة « محلول كلوريد الصوديوم 0.85%» ويكتب التاريخ.

سيترات الصوديوم

انظر سيترات ثلاثية الصوديوم

كربونات الصوديوم الهيدروجينية

انظر بيكربونات الصوديوم

هيدروكسيد الصوديوم، محلول مائي 0.01 مول/ل (رقم 54)

حبيبات هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)	3 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تعنون الحوجلة الحجمية «محلول هيدروكسيد الصوديوم 0.01 مول/ل» ويكتب عليه التاريخ.

تحذير: هيدروكسيد الصوديوم كاوٍ.

ميتابيسلفيت الصوديوم، محلول مائي 20 غ/ل (2%) (رقم 55)

ميتابيسلفيت الصوديوم ($Na_2S_2O_5$)	0.5 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 25 مل

يهيأ طازجاً للاستعمال.

تعنون الحوجلة الحجمية «محلول ميتابيسلفيت الصوديوم 2%» ويكتب عليه التاريخ.

وسط (مستنبت) ستوارت المعدل للنقل (رقم 56)

آغار	4 غ
ماء مقطر	1000 مل
يسخن حتى الذوبان، ويضاف	
كلوريد الصوديوم	3 غ
كلوريد البوتاسيوم	0.20 غ
فوسفات ثنائيه هيدروجين الصوديوم اللامائيه	1.15 غ
صوديوم ثنائية فوسفات الهيدروجين اللامائية	0.20 غ
ثيو غليكولات الصوديوم	1 غ
محلول كلوريد الكالسيوم (طازج)	10 مل
كلوريد المغنزيوم (محلول مائي)	10 مل

الباهاء النهائية = 7.3

1 – يحرك حتى الذوبان ويضاف 10 غ من بودرة الفحم المعتدلة

2 – يوزع 5–6 مل من الوسط (المستنبت) في كل من أنابيب ذات غطاء لولبي.

3 – تعقم في الموصدة بحرارة 121 س، ولمدة عشرين دقيقة. تقلب الأنابيب قبل أن يجمد الوسط لتوزيع الفحم بانتظام.

تعنون الأنابيب «وسط ستوارت الناقل المعدل للنقل» ويكتب عليها التاريخ.

حمض السلفوساليسيليك، محلول 30 غ/ل (3%) (رقم 57)

يُخفَّف المحلول 300 غ/ل (30%) كما يلي.

حمض السلفوساليسيليك 300 غ/ل	3 غم
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

تعنون القارورة «محلول حمض السلفوساليسيليك 3%» ويكتب التاريخ.

تيف TIF (الثيومرسال– محلول يودي–الفورمالدهيد) (رقم 58)

يهيأ محلول خزين:

صبغة الثيومرسال 1: 1000	200 مل
محلول الفورمالدهيد (10%) (رقم 28)	25 مل
غليسيرول	5 مل
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 250 مل

ينقل المحلول ويختزن في قارورة بنية تعنون «محلول الثيومرسال–الفورمالدهيد الخزين» ويكتب التاريخ. يحفظ حتى ثلاثة أشهر.
تحذير: الفورمالدهيد كاوٍ وسام.
في يوم الاستعمال يمزج:

محلول الثيومرسال الخزين	9.4 مل
محلول لوغول اليودي 50 غ/ل (5%) (رقم 37)	0.6 مل

سيترات ثلاثية الصوديوم، محلول مائي 20غ/ل(2%) (رقم 59)

سيترات ثلاثية الصوديوم ثنائية الماء ($Na_3C6H_5O_7.{}_2H_2O$)	2 غ
محلول كلوريد الصوديوم 8.5 غ/ل (0.85%) (رقم 53)	بكمية تكفي لـ 100مل

يحفظ في الثلاجة.
تعنون الحوجلة الحجمية «محلول السيترات ثلاثية الصوديوم 2%» ويكتب عليه التاريخ.

سيترات ثلاثية الصوديوم، محلول ملحي 32غ/ل(3.2%) (رقم 60)

تستعمل كمضاد تخثر

سيترات ثلاثية الصوديوم اللامائية ($Na_3C_6H_5O_7$) (أو كمية مكافئة من السيترات الثنائية أو الخماسية الماء)	3.2 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100مل

يحفظ في الثلاجة. يستعمل 1 مل من المحلول لكل 4 مل من الدم.
تعنون الحوجلة الحجمية «محلول السيترات ثلاثية الصوديوم 3.2%» ويكتب عليها التاريخ.

تورك، محلول (رقم 61)

حمض الأسيتيك الثلجي (CH_3COOH)	4 مل
محلول مائي لزرقة الميثيلين (رقم 39)	10 قطرات
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 200 مل

يذاب حمض الأسيتيك الثلجي في 100 مل من الماء المقطر. يضاف محلول زرقة الميثيلين ويمزج. ينقل المزيج إلى حوجلة حجمية، تزاد إلى 200 مل بالماء المقطر.
تعنون الزجاجة «محلول تورك» ويكتب التاريخ.
تحذير: حمض الأسيتيك كاوٍ.

كواشف اليوريا (البولة) (رقم 62)

محلول ثلاثي كلورأسيتيك 50 غ/ل (5%)

حمض ثلاثي كلورأسيتيك	10 غ
ماء مقطر	بكميه تكفي لـ 200 مل

يوزن الحمض بسرعة لأنه مَيوع، وينقل إلى دورق ويضاف 100 مل من الماء المقطر لإذابة الحمض. ثم ينقل إلى مخبار (أو حوجلة) ذي غطاء بسعة 200 مل، ويُكمَل الحجم إلى علامة 200 مل بالماء المقطر.
تعنون الحوجلة « ثلاثي كلورأسيتيك 5%» ويكتب التاريخ.
تحذير: حمض ثلاثي كلورأسيتيك كاوٍ جداً.

محلول خزين ثنائي أسيتيل مونوكسيم

ثنائي أسيتيل مونوكسيم (ويدعى أيضاً –2،3بوتان ديون مونوكسيم)	2 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 500 مل

تعنون الحوجلة الحجمية محلول خزين ثنائي أسيتيل مونوكسيم» ويكتب التاريخ.
يمكن حفظ المحلول 6 أشهر على الأقل في درجة حرارة 2–8 س.

الكاشف اللوني

كاشف حمضي (رقم 6)	50 مل
كاشف ثنائي أسيتيل مونوكسيم	50 مل

يخلط الكاشف الحمضي ويحفظ المحلول في حوجلة زجاجية ذات سدادة سعة 100 مل.
تعنون الحوجلة الحجمية «كاشف لوني» ويكتب التاريخ. إن الكمية المذكورة كافية لـ 33 قياس. يجب تحضير الكاشف يومياً.

محلول اليوريا المرجعي الخزين 125 ممول/1

يوريا	750 مغ
محلول حمض البنزويك 1 غ/ل (0.1%) (رقم 30)	بكمية تكفي لـ 100 مل

تحل اليوريا في حوالي 20 مل من محلول حمض البنزويك في حوجلة حجمية سعة 100 مل. يضاف محلول الحمض حتى 100 مل.
تعنون الحوجلة الحجمية «محلول اليوريا المرجعي الخزين» ويكتب التاريخ.
تحفظ في الثلاجة لعدة أشهر في 2–8 س.

محلول اليوريا المرجعي للعمل 10 ممول/1

محلول اليوريا المرجعي الخزين	8 مل
محلول حمض النزويك 1 غ/ل (0.1%) (رقم 30)	بكمية تكفي لـ 100 مل

يمزج المحلول جيداً في حوجلة حجمية سعة 100 مل.
تعنون الحوجلة الحجمية «محلول اليوريا المرجعي للعمل» ويكتب التاريخ.

ملون ويسون (رقم 63)

المحلول آ1 :

فوكسين أساسي	2 غ
ميثانول، لا مائي («مطلق»)	100 مل

المحلول آ2 :

زرقة الميثيلين	7 غ
ميثانول لا مائي («مطلق»)	100 مل

يمزج المحلولان للحصول على المحلول آ

المحلول ب (محلول مائي للفينول 50 غ/ل (5%)):

فينول C6H5OH	100 غ
ماء مقطر	2000 مل

يضاف المحلول (آ) إلى المحلول (ب). تتحسن الخواص التلوينية لملون ويسون مع القِدَم. يهيأ بمقادير كبيرة ثم يوزع بمقادير صغيرة في قوارير بنية للاستعمالات المقبلة.
تعنون القوارير «ملون ويسون» ويكتب عليه التاريخ.
تحذير: الفينول كاوٍ.

محلول ويلّيس Willis (رقم 64)

هذا محلول مشبع لكلوريد الصوديوم

كلوريد الصوديوم ($NaCl$)	125 غ
ماء مقطر	500 مل

يذاب كلوريد الصوديوم بتسخين المزيج إلى نقطة الغليان ثم يترك ليبرد. يتم التأكد من أن بعض بلورات الملح قد بقيت غير ذائبة، فإذا ذاب الملح كله يضاف 50 غ أخرى. يرشح ويحفظ في قارورة ذات سدادة من الفلين.

تعنون القارورة «محلول ويليس» ويكتب التاريخ.

محلول ونتروب Wintrobe (رقم 65)

أوكسالات الأمونيوم [$(NH_4)2C_2O_4.H_2O$]	1.2 غ
أوكسالات البوتاسيوم ($K_2C_2O_4.H_2O$)	0.8 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

يوضع الملحان في 50 مل من الماء المقطر في حوجلة حجمية. يضاف الماء المقطر إلى 100 مل.

تعنون الحوجلة «محلول ونتروب» ويكتب التاريخ.

يوزع هذا المزيج بمقدار 0.5 مل في قوارير سعة 5 مل مستعملة لأخذ الدم. تترك القوارير المفتوحة لتجف في حرارة الغرفة والأفضل وضعها في الحاضنة بدرجة 37 م.

مُثَبِّت زنكر (رقم 66)

ثنائي كرومات البوتاسيوم	2.5 غ
كلوريد المركوريك	5.0 غ
سلفات الصوديوم	1.0 غ
ماء مقطر	بكمية تكفي لـ 100 مل

قبل الاستعمال مباشرةً، يضاف 5 مل من حمض الأسيتيك الثلجي إلى المحلول.

تحل الأملاح الثلاثة في 50 مل من الماء المقطر في حوجلة حجمية سعة 100 مل، ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى 100 مل. تعنون الحوجلة «مثبت زنكر» ويكتب التاريخ.

تحذير: حمض الأستيك الثلجي كاوٍ بشدة، وكلوريد الميركوريك سام بشدة. لذا يتم التثبيت بيد اختصاصيين خبراء.

هذا الكتاب هو دليل عملي لإنجاز التقانات الأساسية في المختبر بشكل آمن ودقيق . وهو موجه لتقنيي المختبرات الذين يعملون في مختبرات ذات مستوى محيطي في البلدان النامية . لذا فهو يؤكد على الإجراءات البسيطة والاقتصادية والتي تؤدي إلى نتائج دقيقة رغم كون المصادر بما فيها التجهيزات نادرة، وكون الطقس فيها حار ورطب .

قُسّم هذا الكتاب إلى ثلاثة أقسام ؛ الأول يصف طرقة تأسيس مختبر صحي محيطي ، والإجراءات العامة في المختبر بما فيها استعمال المجهر والموازين والمرسبة ، والقيام بالقياسات ، وتوزيع السوائل والتنظيف والتطهير وتعقيم أجهزة المختبر . كما يناقش طرق التخلص من فضلات المختبر ، وإرسال النماذج إلى مختبرات مرجعية ، وسلامة المختبر . القسم الثاني يصف طرائق فحص النماذج المختلفة لتحري الديدان والأوالي والجراثيم والفطور ، كما أن طرائق التحضير وتثبيت لون اللطاخات قد نوقشت أيضاً . القسم الثالث والأخير يصف طرائق فحص البول والسائل الدماغي الشوكي والدم ، شاملاً تقانات تقوم على أسس مناعية ومصلية . لقد وضعت لكل طريقة قائمة بالمواد والكواشف مع وصف مفصل لطريقة العمل ونتائج الفحص المجهري .

استخدم في هذا الدليل عدد من الأشكال التوضيحية لشرح الخطوات المختلفة المتبعة . وضم الملحق خلاصة عن الكواشف المطلوبة للطرائق المختلفة وكيفية تحضيرها .